

Aus dem Lehrstuhl
für Innere Medizin III
Prof. Dr. Wolfgang Herr

der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

***Klinische Effektivität der Transfusion von Granulozyten-Konzentraten bei
hämato-/onkologischen Patienten mit therapierefraktärer Pilzinfektion***

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Katharina Dullinger

2014

Aus dem Lehrstuhl
für Innere Medizin III
Prof. Dr. Wolfgang Herr

der Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

***Klinische Effektivität der Transfusion von Granulozyten-Konzentraten bei
hämato-/onkologischen Patienten mit therapierefraktärer Pilzinfektion***

Inaugural – Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der
Fakultät für Medizin
der Universität Regensburg

vorgelegt von
Katharina Dullinger

2014

Dekan: Prof. Dr. Dr. Torsten E. Reichert

1. Berichterstatter: Prof. Dr. E. Holler

2. Berichterstatter: PD Dr. N Ahrens

Tag der mündlichen Prüfung: 30.10.2014

Inhaltsverzeichnis

1. Einleitung	7
1.1. Leukämie und Behandlung	7
1.2. Hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen	9
1.3. Stammzellquellen und Stammzellgewinnung	9
1.3.1. Knochenmark (BM)	9
1.3.2. Peripheres Blut	9
1.3.3. Nabelschnurblut (UCB)	10
1.4. Allogene Stammzelltransplantation bei malignen hämatologischen Erkrankungen	10
1.5. Komplikationen der Stammzelltransplantation	11
1.6. Neutropene Infektionen	11
1.6.1. Leukozytopenie, Neutropenie und Agranulozytose	11
1.6.2. Infektionen	12
1.7. Granulozyten	16
1.7.1. Granulopoese	16
1.7.2. Funktion der neutrophilen Granulozyten	17
1.7.3. Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF)	18
1.7.4. Humane recombinant Granulocyte-Colony Stimulating Factor (hr G-CSF)	19
1.8. Granulozytenkonzentrate	20
1.8.1. Mobilisation	20
1.8.2. Spende kriterien im Rahmen der Produktherstellung	20
1.8.3. Weiterverarbeitung und Lagerung	21
1.8.4. Qualitätskontrollen in Rahmen der pharmazeutischen Freigabe	21
1.9. Fragestellung	21
2. Material und Methodik	22
2.1. Patienten	22
2.2. Mobilisation der Spender am Universitätsklinikum Regensburg	35
2.3. Granulozyten-Apherese	36
3. Ergebnisse	38
3.1. Spender	38
3.1.1. Spender-spezifische Parameter	38
3.1.2. Blutwerte vor Apherese	38
3.2. Granulozyten-Konzentrat	40
3.2.1. Spezifische Parameter der Granulozyten-Konzentrate	40
3.3. Patienten	42
3.4. Tabellarische Zusammenfassung	76
3.4.1. Übersicht über Komplikationen bei verstorbenen Patienten	76
3.4.2. Zusammenfassung der CRP und Leukozyten-Werte im Verlauf	77
3.4.3. CRP-Veränderung im Verlauf in Bezug auf den CRP-Wert vor erster GK-Gabe	79

3.4.4. Zusammenfassung im Hinblick auf den Zeitpunkt der GK-Gabe.....	81
3.5. Überlebenszeitanalyse	82
4. Diskussion	84
4.1. Herstellung der Granulozyten-Konzentrate	84
4.2. Klinische Effektivität der Granulozyten-Konzentrate	88
4.3. Abschließende Betrachtung und Ausblick	94
5. Zusammenfassung.....	96
6. Anhang.....	97
6.1. Abkürzungsverzeichnis	97
6.2. Tabellenverzeichnis	98
6.3. Abbildungsverzeichnis	98
6.4. Lebenslauf	100
6.5. Ehrenwörtliche Erklärung	101
6.6. Danksagung	102
7. Literaturverzeichnis.....	103

1. Einleitung

In der folgenden Arbeit wird die klinische Effektivität von Granulozyten-Konzentraten im Rahmen der Therapie von Pilzinfektionen untersucht, welche ihre Ursache in der Behandlung der leukämischen Grunderkrankung haben.

1.1. Leukämie und Behandlung

Bei den Leukämie-Erkrankungen differenziert man zwischen der myeloischen und der lymphatischen Leukämie in Abhängigkeit davon welche Zellreihe durch die Erkrankung betroffen ist. Im Weiteren lässt sich sowohl die myeloische als auch die lymphatische Leukämie wiederum in akut und chronisch unterteilen. Da sich die vier Erkrankungen in einigen gravierenden Punkten unterscheiden werden sie im Folgenden kurz dargestellt und im Einzelnen besprochen.

1.1.1. Akute lymphatische Leukämie (ALL)

Die ALL ist nur in seltenen Fällen auf eine familiäre Disposition zurückzuführen. Es werden eher exogene Kanzerogene wie z.B. radioaktive Strahlung, Chemikalien oder bestimmte Infektionserreger (EBV, HTLV-1-Virus) mit der Entwicklung einer ALL in Verbindung gebracht. Bei der Entstehung der ALL können sich einerseits die lymphatischen Progenitorzellen ungehemmt vermehren, andererseits ist die Reifung der gebildeten Zellen gehemmt. Die folgende übermäßige und unkontrollierte Bildung an unreifen Zell-Klonen führt zur Verdrängung der normalen Hämatopoese, was zur Entwicklung eines Knochenmarksversagens führt. Die zusätzliche Infiltration des lymphatischen Gewebes und auch der Organe durch Blasten bedingt die entsprechende Symptomatik wie z.B. Hepato-/ Splenomegalie, Vergrößerung der Lymphknoten, ZNS-Befall und Mediastinaltumore mit Ausbildung einer massiven Atemnot und oberen Einflusstauung. Ein Großteil der Patienten zeigt Veränderungen in der Zytogenetik, woran der Phänotyp der Erkrankung bestimmt wird. Die Art des Immunphänotyps hat hinsichtlich der klinischen Präsentation eine Bedeutung in Betreff auf die Therapie und die Prognose. Die Diagnose erfolgt anhand der Analyse des Differentialblutbildes und des Knochenmarks. Die Ergebnisse der morphologischen und zytochemischen Untersuchung, sowie der oben genannten Immunphänotypisierung, der Zytogenetik und der Molekulargenetik werden wiederum für die Klassifikation nach FAB und die Einteilung der ALL in Risikogruppen herangezogen. Die Basis der Therapie bildet eine intensive Chemotherapie aus verschiedenen Phasen (Induktionstherapie zur Reduktion von >99% der Tumorzellen mit Wiederherstellung der regelrechten Hämatopoese, Konsolidierungstherapie zur Intensivierung mit weiterer Reduktion und Rezidiv-Verhinderung, Erhaltungstherapie zur Optimierung des Therapieergebnisses) mit möglicher Erweiterung um Strahlentherapie und Stammzell-Transplantation (SZ-Tx). Zusätzlich spielt eine entsprechende ZNS-Prophylaxe eine wichtige Rolle, da es in bis zu 30% der Fälle, welche keine Vorsorge erhalten haben, zu einem Wiederausbruch der Erkrankung im Bereich des ZNS kommt. In Abhängigkeit der verwendeten Prophylaxe konnte die Rezidiv-Rate jedoch mindestens halbiert werden.^{1 2} Seit den 60er Jahren konnte auf Grund der verbesserten Therapie-Schemata die 5 Jahres-Überlebensrate ohne Rezidiv auf 80 % bei Kindern und 40% bei Erwachsenen gesteigert werden.³

1.1.2. Akute myeloische Leukämie (AML)

Die AML kann unter anderem ihre Ursache in einer kongenitalen Erkrankung, einer erfolgten Behandlung mit Zytostatika (z.B. Alkylanzien oder Topoisomerase-II-Inhibitoren), einer Bestrahlung oder einer Hochdosischemotherapie mit folgender autologer Stammzelltherapie haben. Auch hier zeigt sich eine Dysregulation im Hinblick auf die Zellproliferation, sowie der Differenzierung mit einer folgenden monoklonalen Anreicherung an Blasten. Anhand des genetischen und molekularbiologischen Bildes kann zwischen AML mit

¹ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 1673ff

² (Pui & Evans, 2006)

³ (Pui, Relling, & Downing, 2004)

Veränderungen auf chromosomaler Ebene und AML ohne Nachweis von Karyotyp-Veränderungen unterschieden werden. Liegt eine Translokation vor, so kann dies entweder balanciert sein oder unbalanciert. Die klinische Symptomatik lässt sich wiederum durch die Verdrängung der normalen Hämatopoese erklären. Die Diagnose wird anhand von Ausstrichen gestellt. Hierzu wird entweder Material einer Knochenmarkspunktion oder peripheres Blut auf einem Objektträger ausgestrichen und gefärbt. Die Beurteilung erfolgt dann unter zytomorphologischen und zytochemischen Gesichtspunkten. Die Einteilung erfolgt nach FAB-Klassifikation. Die Therapie basiert auf zwei Säulen. Einerseits soll es zur Vernichtung der monoklonalen Blasten kommen, andererseits soll auch das Blut-bildende System wieder in Gang gebracht werden. Hierzu erfolgt wieder zunächst eine Induktionstherapie, ggf. eine Doppel-Induktionstherapie, mit anschließender Konsolidierungstherapie. Seit den 70er Jahren konnten die Langzeitremissionsraten nahezu verdreifacht werden.⁴

1.1.3. Chronisch myeloische Leukämie (CML)

Die Ursache der CML hingegen ist bis dato noch nicht geklärt. Mit einem Anteil von 15% bis 20% kommt der Erkrankung jedoch eine große Bedeutung zu. Die Erkrankung wird durch das Vorliegen verschiedener Befunde definiert, welche Hinweise auf eine myeloproliferative Erkrankung liefern. Hierzu zählt die B-Symptomatik, wie z.B. Gewichtsverlust, Fieber und Schwitzen, als Ausdruck des Hypermetabolismus. Dieser kann auch in den Laborparametern verzeichnet werden mit LDH- und Harnsäuren-Erhöhung. Im Blutbild lässt sich eine Leukozytose bestimmen mit Linkverschiebung bis hin zum Nachweis von Blasten. In der Knochenmarkspunktion zeigt sich ein zellreiches Bild. Liegen die oben genannten Befunde vor, ohne dass sich Anzeichen für eine anderweitige myeloproliferative Ursache finden lassen, so liegt die Diagnose einer CML recht nahe. Im Weiteren empfiehlt sich auch eine molekulargenetische Untersuchung. Hierbei lässt sich häufig ein sogenanntes Philadelphia Chromosom finden, welches durch die Translokation t(9;22)(q34.1;q11) entsteht. In Abhängigkeit der Lokalisation der Translokation kann es zur Bildung eines BCR-ABL- Fusionsgens kommen. Die CML ist einerseits gekennzeichnet durch eine Imbalance von Neubildung und Differenzierung, und andererseits werden anti-apoptotische Mechanismen in Gang gesetzt. Die Symptomatik beginnt meist schleichend und umfasst am Häufigsten unspezifische Allgemeinsymptomatik wie Ermüdbarkeit, Leistungsabfall und Krankheitsgefühl, gefolgt von Organmegalie und ungewollten Gewichtsverlust. Im Blutbild zeigt sich Definitions-gemäß eine Leukozytose mit einer Linksverschiebung. Im Knochenmark ist die Zelldichte deutlich erhöhte zu Gunsten der Granulopoese mit einem Erythropoese-Granulopoese-Quotienten von 1:25. Das Fettmark ist meist vollständig verdrängt und in bis zu 40% der Fälle lassen sich Pseudo-Gaucher-Zellen finden, welche Glykolipide speichern. Eine frühzeitige Therapie verbessert die Prognose. Neben der medikamentösen Therapie steht auch eine allogene SZ-Tx als Therapie zur Verfügung. Auf Grund der Nebenwirkungen und möglichen Komplikationen einer allogene SZ-Tx muss eine adäquate Nutzen-Risiko Betrachtung erfolgen. Hierbei muss mit einbezogen werden in welchem Stadium der Patient sich befindet und in wie weit die medikamentöse Therapie ausgereizt wurde. Standardtherapie in der chronischen Phase ist die Gabe von Imatinib als BCR-ABL-Tyrosinkinase-Inhibitor.⁵

1.1.4. Chronisch lymphatische Leukämie (CLL)

Die CLL ist die häufigste Diagnose einer Leukämie im Erwachsenenalter in westlichen Ländern und hat einen Anteil von 25-30%. Die Ursache der Erkrankung ist ungeklärt. Pathogenetisch zeigt sich eine Anreicherung an Lymphozyten der B-Reihe in unterschiedlichen Differenzierungsstadium. Es folgt eine Infiltration der teilweise monoklonalen Zellen in das lymphatische Gewebe und in Organe mit folgender Organmegalie. Die Infiltration des Knochenmarks führt zu einer Knochenmarksinsuffizienz. Im weiteren Verlauf zeigt sich als Folge einer Immundefizienz ein erhöhtes Infektionsrisiko. Die Stadieneinteilung erfolgt anhand der Ausprägung der Knochenmarksinsuffizienz nach Rai oder Binet. Die Erkrankung präsentiert sich zu Beginn meist asymptomatisch. Ein kleiner Teil der Patienten berichtet von B-Symptomatik, meistens präsentiert sich eine Vergrößerung der

⁴ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 1637ff

⁵ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 1704ff

Lymphknoten, Leber oder Milz. Zur Diagnose wird das Blutbild, Differentialblutbild und eine FACS-Analyse herangezogen. Untersuchungen des Knochenmarks spielen zur Beurteilung der Prognose eine wichtige Rolle. Zur Therapie stehen in Abhängigkeit vom Erkrankungsstadium verschiedene Medikamente, sowie SZ-Tx zur Verfügung.⁶

1.2. Hämatopoetische Stamm- und Progenitorzellen

Die hämatopoetische Progenitorzelle (HPC) lässt sich anhand des Membranphosphoglykoproteins CD34 als Oberflächenmarker erkennen. Zu den HPCs gehört auch die pluripotente hämatopoetische Stammzelle (HSC) mit dem Phänotyp CD34 positiv und CD38 negativ. Auf Grund ihrer Fähigkeit der Selbsterneuerung, Duplikation und Differenzierung sowohl in lymphatische als auch myeloische Vorläuferzellen mit folgender Reifung innerhalb der entsprechenden Zellreihe, kann bei myeloablativ vorbehandelten Patienten durch eine intravenöse Transfusion von HSCs eine langfristige Rekonstitution der Hämatopoese erreicht werden. Zusätzlich sind zwar noch weitere Antigene stammzelltypisch, wie z.B. das Thy-1 oder AC-133, in der Routine hat sich jedoch der CD34+ Oberflächenmarker als zuverlässiger Parameter zum Nachweis für die Stammzellenanreicherung präsentiert.^{7 8}

1.3. Stammzellquellen und Stammzellgewinnung

1.3.1. Knochenmark (BM)

Als Stammzellquellen können verschiedene Medien dienen. Zunächst einmal ist das BM zu nennen, was während einem aseptischen operativen Eingriff durch wiederholte Aspirationspunktion des hinteren bzw. vorderen Beckenkamms oder des Sternums gewonnen wird. In Abhängigkeit der geforderten Dosis an HSC kann das gewonnene Volumen 10 bis 20 ml/kg Körpergewicht (KG) betragen. Bei den Nebenwirkungen spielen vor allem die Schmerzen auf Grund der mehrfachen Punktion des Knochens eine Rolle, sowie die Beschwerden, welche ihren Ursprung in der Anästhesie haben. Hierzu gehören in Abhängigkeit der gewählten Anästhesie (Allgemein-, Spinal- oder Epiduralanästhesie) Wundgefühl im Bereich der oberen Atemwege, Übelkeit, Schwindel oder Kopfschmerzen. Des Weiteren kann sich eine transfusionsbedürftige Anämie einstellen.⁹ Vorteil der Stammzellgewinnung aus BM ist die verminderte Anzahl an T-Zellen im Transplantat und das erniedrigte Risiko einer chronischen Graft-versus-Host-Erkrankung (c-GvHD).¹⁰ Jedoch zeigt sich ein verlangsamter neutrophiler und thrombozytärer Take.¹¹

1.3.2. Peripheres Blut

Als zweite Quelle dienen Blutstammzellen (PBSC). Diese können autologen oder allogenen Ursprungs sein. Bei allogenen Spenden unterscheidet man HLA-identische Familienspenden (MRD), HLA-identische Fremdspenden (MUD) und Spenden mit einem HLA-Mismatch. Es erfolgt zunächst eine Anreicherung der peripheren PBSCs durch eine mehrtägige Behandlung mit hämatopoetischen Wachstumsfaktoren, wie dem rekombinanten humanen G-CSF. Als Dosis für freiwillige Spender werden 10 µg/kg KG empfohlen, sowie eine Verminderung der Dosis ab Werten von >70.000 Leukozyten/µl. Im Anschluss an die Mobilisation erfolgt die Leukapherese. Die erforderliche Mindestdosis liegt bei $\geq 4 \times 10^6$ /kg KG des Empfängers um eine stabiles Engraftment garantieren zu können. Die Nebenwirkungen sind einerseits bedingt durch die Mobilisation mit G-CSF und andererseits durch die präparative Apherese unter Verwendung eines Antikoagulanz. Hierzu zählt Schweißausbruch, Übelkeit,

⁶ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 1723ff

⁷ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 541

⁸ (Wiernik, Goldman, Dutcher et al, 2013) Seite 179 ff

⁹ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 541

¹⁰ (Anasetti, Logan, Lee et al, 2012)

¹¹ (Maziarz & Slater, 2011) Seite 22

Erbrechen, Schwindel und Kollapsneigung als Folge eines Volumenmangels, sowie Elektrolytschwankungen mit folgenden Parästhesien und Muskelspasmen, Überempfindlichkeitsreaktionen und technische Komplikationen.¹²

¹³ Der Vorteil der PBSC ist eine geringere Rate an Graft-Failure (Transplantat-Versagen).¹⁴ Des Weiteren stellt sich bei der Hämatopoese ein schnellerer Take ein. Jedoch wird ein adäquates Mobilisations-Schema mit G-CSF benötigt um eine ausreichende Anzahl an CD34+ Zellen im peripheren Blut zu erhalten. Ein weiterer Nachteil liegt in der vermehrten Anzahl an T-Zellen im Transplantat, welche das Risiko für eine c-GvHD erhöhen.¹⁵

1.3.3. Nabelschnurblut (UCB)

Zuletzt kann auch aus Nabelschnurblut Stammzellen gewonnen werden. Diese Methodik wurde 1988 zuerst durch Gluckman und Mitarbeiter eingeführt. Bei diesem Verfahren wird die Nabelschnur nach der Abnabelung mittels einer sterilen Nadel punktiert, das stammzellreiche Blut des Kindes aus der Plazenta aspiriert und innerhalb von 24h weiter verarbeitet und kryokonserviert. Diese Variante der Stammzellgewinnung ist einerseits ohne Risiko und sofort verfügbar, andererseits zeigt sich eine niedrige Inzidenzrate von GvH-Erkrankungen. Dies lässt sich auf die Tatsache zurückführen, dass der Anteil an Lymphozyten gering ist und die Immunzellen im Transplantat noch nicht ausgereift sind hinsichtlich ihrer Funktionalität. Jedoch ist in einer UCB-Einheit nur 1/5 bis 1/10 der mononukleären Zellen (MNC) und CD34+ Zellen einer Knochenmarkspende. Dies wird zum Teil dadurch kompensiert, dass die fetalen Stammzellen ein höheres Proliferations- und Expansionspotential aufweisen als adulte Stammzellen.^{16 17 18}

1.4. Allogene Stammzelltransplantation bei malignen hämatologischen Erkrankungen

Bei der allogenen Stammzell-Transplantation (SZ-Tx) erfolgt ein klassisches Therapieschema. Im Rahmen der myeloablativen Konditionierungstherapie wird zunächst eine Hochdosischemotherapie mit Cyclophosphamid durchgeführt. Diese kann entweder mit einer Ganzkörperbestrahlung (TBI) verknüpft werden oder mit einer Gabe von Busulfan. Das Ziel ist einerseits eine Tumorreduktion, andererseits eine Immuntoleranz mit einhergehender Transplantattoleranz. Die Gabe eines Anti-Thymozytenglobulins (ATG) kann durch einen gezielten Abbau der T-Zellen zur oben genannten Immuntoleranz beitragen. Das klassische Schema kann in Abhängigkeit der sich präsentierenden klinischen Situation sowie der Eigenschaften des geplanten Transplantates zur allogenen Versorgung entsprechend abgewandelt werden. Im Rahmen dieser Modifikation kann eine weitere Anzahl an Medikamenten in unterschiedlicher Kombination bzw. Dosis ihre Anwendung finden. Hierzu zählen Fludarabin, Cytosinarabinosid, Idarubicin, Melphalan und Thiotepa. Die Wahl der optimalen Konditionierungstherapie ist einerseits abhängig von der Toxizität gegenüber dem Tumor sowie den körpereigenen Zellen, andererseits spielt aber auch der klinische Status eine wichtige Rolle.

Ca. ¾ der allogenen SZ-Tx wird bei Patienten mit Leukämie durchgeführt. Hiervon finden 31% bei AML, 19% bei ALL und 11% bei CML-Erkrankungen statt. Der Anteil bei CLL-Erkrankungen hingegen beträgt nur 2%. Der MDS Anteil liegt bei 10%.¹⁹

¹² (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 541ff

¹³ (Maziarz & Slater, 2011) Seite 21ff

¹⁴ (Anasetti, Logan, Lee et al, 2012)

¹⁵ (Maziarz & Slater, 2011) Seite 23

¹⁶ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 545ff

¹⁷ (Soiffer, 2008) Seite 267 ff

¹⁸ (Bishop, 2009) Seite 233 ff

¹⁹ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 552ff

1.5. Komplikationen der Stammzelltransplantation

Eine exakte Ursache für Komplikationen nach einer erfolgten SZ-Tx lässt sich in vielen Fällen nicht eindeutig eruieren. So kann eine Organfunktionsstörung zum einen auf eine akute GvHD zurückgeführt werden, oder aber auch Anzeichen für eine Infektion sein. Des Weiteren kann aber auch die Toxizität der verwendeten Medikation zu einer Schädigung mit Funktionseinschränkung des Organs führen. Auch das Nebenwirkungs-Potential der Begleittherapie darf nicht außer Acht gelassen werden. Aus diesen Gründen lassen sich keine genauen Angaben zu Inzidenz-Raten machen. Es lässt sich jedoch sagen, dass die GvHD zu den häufigsten Komplikationen zählt. In Abhängigkeit der zeitlichen Manifestation nach der erfolgten allogenen SZ-Tx wird die akute GvHD (Manifestation vor Tag +100) von der chronischen GvHD (nach Tag +100) unterschieden. Unter Verwendung des oben genannten Therapie-Schemas in Kombination mit einer entsprechenden Vorsorge kommt es nach einer Transplantation eines MRD in 40-45% der Fälle zu einer a-GvHD 2-4°, welche eine Therapie bedarf. Die Inzidenz steigt auf 50-75% an bei der Transplantation von einem MUD unter den gleichen Bedingungen. Eine weitere schwerwiegende Komplikation stellt das Transplantatversagen dar, auch bezeichnet als „Graft-Failure“. Hier erfolgt die Einteilung in primäres und sekundäres Transplantatversagen. Anzeichen für ein primäres Transplantatversagen ist das Ausbleiben des Engraftments. Ist jedoch zunächst ein Engraftment mit Regenerierung der Hämatopoese zu verzeichnen gefolgt von einem Absinken der Blutwerte spricht man von einem sekundären Transplantatversagen. Das Risiko ist vor allem abhängig von dem Grad der Übereinstimmung des HLA-Typus zwischen Spender und Empfänger, sowie dem Vorhandensein von HLA-Antikörper beim Empfänger gegen die HLA-Antigene des Spenders. Zusätzlich spielen auch die Konditionierung und die transplantierte Dosis an CD34+-Zellen eine entscheidende Rolle. Eine Abstoßungsreaktion basierend auf einer infektiösen Genese oder Medikamenten-induziert wird ebenfalls beschrieben. Beim MUD bzw. bei maximal einem Mismatch kommt es in 5% der Fälle zum Transplantatversagen, und zu 29% bei >1 Mismatch. Ein zusätzliches Problem stellt die ausgeprägte Infektgefährdung dar, welche einerseits durch die Neutropenie hervorgerufen wird und andererseits durch Schwächung bzw. Schädigung der Immunabwehr, sowohl auf zellulärer als auch der humoralen Ebene. Im Folgenden wird deshalb näher auf neutropene Infekte eingegangen.²⁰

1.6. Neutropene Infektionen

1.6.1. Leukozytopenie, Neutropenie und Agranulozytose

Begriffsdefinitionen

Eine Leukozytopenie wird definiert durch ein Absinken der absoluten Leukozyten-Werte <4.000/μl, wohingegen sich eine Neutropenie durch ein Absinken der Absolut-Werte der neutrophilen Granulozyten (nG) <1.800/μl auszeichnet.²¹ Sinkt die Anzahl der nG unter 500/ μl spricht man von einer absoluten Neutropenie, bei Werten von <200 nG/μl bleibt die Kaskade der Entzündungsantwort aus. Die Infektgefährdung steigt jedoch bereits bei Werten <1000 nG/ μl rapide an. Der Organismus eines Patienten mit absoluter Neutropenie zeigt sich sogar anfällig gegenüber der endogenen Keimflora. Die Ursache kann in jedem Abschnitt des Lebenszyklus liegen, sprich eine Bildungsstörung im Knochenmark, ein vermehrter bzw. vorzeitiger Abbau oder eine Anreicherung im Gewebe.²²

²⁰ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 558f

²¹ (Classen, Diehl, & Kochsiek, 1998) Seite 161f

²² (Fauci, Braunwald, Kasper et al, 2008) Seite 378

Die Agranulozytose, welche auch als maligne oder perniziöse Neutropenie bezeichnet wird, zeichnet sich durch eine Leukozytopenie mit Leukozyten-Werten $<2.000/\mu\text{l}$ aus in Kombination mit deutlich erniedrigten bis fehlenden Granulozyten. Einhergehend kann eine Thrombozytopenie auftreten.²³

Ursache

Die Auslösung für eine Neutropenie kann einerseits eingeteilt werden in angeboren oder erworben, und andererseits in Bildungs- oder Abbaustörung

Bei den Bildungsstörungen kommt es auf Ebene des Knochenmarks zu einer verminderten Produktion an neutrophilen Granulozyten. Dies ist am häufigsten iatrogen bedingt als Folge einer Medikamenten-induzierten Knochenmarksdepression oder eines toxischen Knochenmarksschaden. Die Neutropenie kann neben der verminderten Produktion der Vorläuferzellen auch durch eine Proliferationshemmung der Vorläuferzellen hervorgerufen werden. Zusätzlich können hämatologische Erkrankungen wie zum Beispiel die aplastische oder perniziöse Anämie, sowie Tumorinfiltrationen in das Knochenmark und Myelofibrosen zu einer verminderten Bildungsrate mit folgender Neutropenie führen. Des Weiteren stehen bestimmte Infektionserreger im Zusammenhang mit einer herabgesetzten Zellbildung. So kann unter anderem bei einer HIV-Infektion, einer EBV-Infektion oder einer viral bedingten Hepatitis eine Neutropenie beobachtet werden.

Bei den Abbaustörungen kommt es zu einem vermehrten bzw. vorzeitigen Abbau der neutrophilen Granulozyten. Auch dies kann wieder Medikamenten-induziert sein. Hierbei wirkt das betreffende Medikament als Hapten, was selbstständig keine Antigenität aufweist und somit auch keine Immunreaktion auslösen kann. Bindet sich das Medikament jedoch an eine oberflächliche Zellstruktur der neutrophilen Granulozyten kommt es zu einer Sensibilisierung dieser Zellen. Der gebildete Proteinkomplex aus Hapten und Hapten-Trägerprotein kann als vollständiges Antigen fungieren und eine Reaktion des Immunsystems auslösen. Dies hat einen zeitlich versetzten Abbau der peripheren Neutrophilen zur Folge.²⁴ Des Weiteren kann ein vermehrter Abbau durch Anti-neutrophile Antikörper erfolgen bei Autoimmunerkrankung, wie zum Beispiel beim Systemischen Lupus erythematodes oder der rheumatoiden Arthritis.

Angeborene Neutropenien hingegen sind eine Seltenheit. Die Ursache kann in einer Mutation im Bereich des Anti-Apoptose Gens liegen, wie beim Kostmann Syndrom, oder in der Bildungskaskade des G-CSF und des G-CSF-Rezeptors. Aus diesem Grund zeigt sich die Manifestation der Erkrankung bereits in den ersten Lebensjahren mit einer anhaltenden Neutropenie.²⁵

Die Neutropenie gehört zu der häufigsten Nebenwirkung bei Patienten, welche eine Chemotherapie bei maligner Erkrankung des Blut-bildenden Systems erhalten. Da das Risiko für eine Infektion proportional mit der Neutropenie-Dauer steigt²⁶ und sich die Infektionserreger neutropener Infektionen durch gewissen Besonderheiten auszeichnen wird darauf im nächsten Abschnitt genauer eingegangen.

1.6.2. Infektionen

Ein schwerwiegendes Problem bei Patienten mit malignen Erkrankungen stellen Infektionen dar. So sind zum Beispiel bei Patienten mit akuten Leukämien Infektionen die primäre Ursache für das Eintreten des Todes. Das Spektrum der Infektionen ist weitreichend und mannigfaltig. Neben dem erhöhten Risiko eine latente Infektion zu reaktivieren, können auch viele Faktoren die Entstehung einer neuen infektiösen Erkrankung begünstigen. Eine gestörte B- und T-Lymphozytenfunktion resultiert in einer beeinträchtigten zellulären und humoralen Immunabwehr. Ganz voran steht als Ursache jedoch die bereits erwähnte Neutropenie. Hierbei steht das Ausmaß und die Dauer der Neutropenie in enger Korrelation mit dem Auftreten einer Infektion und deren Verlauf. Diese

²³ (Pschyrembel, *Klinisches Wörterbuch*, 2002) Seite 29

²⁴ (Müller-Esterl, 2011)

²⁵ (Fauci, Braunwald, Kasper et al, 2008) Seite 379

²⁶ (Bodey, Buckley, Sathe et al, 1966)

sogenannten neutropenen Infektionen werden häufig durch bestimmte Erreger hervorgerufen, wobei sich in den letzten Jahrzehnten hier ein Wandel vollzogen hat. In der pre-Engraftment-Phase lassen sich neben Gram-negativen Stäbchen (z.B. *E. coli* und *Pseudomonas aeruginosa*), vermehrt *Staphylococcus aureus*, Koagulase-negative Staphylokokken (z.B. *Staphylococcus epidermidis*) und alpha-hämolysierende Streptokokken (z.B. *Streptococcus mitis*) isolieren. Des Weiteren spielen auch virale Erreger wie das Herpes-Simplex Virus (HSV) und das Humane-Herpes Virus-6 (HHV-6), sowie Pilzsporen der *Aspergillus* und *Candida*-Spezies eine bedeutende Rolle. Bei Identifikation der Keime zeigt sich, dass vor allem Erreger der natürlichen Bakterienflora Ursache der Infektionen sind.^{27 28 29} Liegt der ANC <1000 /µl bei Patienten mit bösartigen Erkrankungen des Blut-bildenden Systems oder Raumforderungen in einem Organ, so wird bei einem Anteil von 48,3% Infektionen beobachtet.³⁰

Bakterielle Infektionen

Bei den bakteriellen Infektionen spielt die Bakteriämie die größte Rolle. Diese ist meist durch endogene Keime hervorgerufen, aber auch Katheter-assoziierte Infektionen spielen eine Rolle. Nur ca. 20-30% der Blutkulturen (BK) erbringen jedoch einen Erreger-Nachweis, so dass eine auf der Erreger abgestimmte Antibiose eingeleitet werden kann. Die Bandbreite der Erreger, welche hier isoliert werden können, ist abhängig von verschiedenen Einflussfaktoren. Hierzu gehört einerseits natürlich die medikamentöse Antibiotika-Prophylaxe, andererseits sind aber auch die Krankenhaushygiene und das Infektionsmanagement auf Station von großer Bedeutung. Lässt sich kein Erreger in der BK, BAL oder in den entsprechenden Abstrichen nachweisen, fehlt auch ein Keim-spezifisches Antibiotogramm. Ohne das genaue Resistenz-Spektrum zu kennen, ist es auch nicht möglich ein Antibiotogramm zu erstellen. In diesen Fällen erfolgt eine Umstellung auf eine kalkulierte empirische Therapie, wobei man sich nach dem klinischen Bild und den erwarteten Erregerspektrum richtet. Bei Bedarf kann es auch zur systemischen Eskalation der Therapie kommen.³¹ Insbesondere sind es endogene Keime, welche regulär Haut- und Schleimhaut besiedeln, die ursächlich sind für die Infektion. Hierbei sind die Koagulase-negativen Staphylokokken mit dem *Staphylococcus epidermidis* die wichtigsten Vertreter. Dieser Hautkeim ist unter normalen Umständen für den Menschen nicht pathogen. Er kann jedoch bei neutropenen Patienten mit implantierten Fremdkörpern und intravasalen oder anderen Kathetern aus Plastikmaterial schnell zu einer Septikämie führen auf Grund der Fähigkeit sich irreversibel auf Plastikmaterial adhärent anzulagern und zu vermehren. Eine Schleimsubstanz, welche durch den Keim produziert wird, überzieht den Keim wie eine zusätzliche extrazelluläre Schicht. Dadurch erhält das Bakterium einen Schutz gegenüber der vielfachen Immunabwehr des Wirtkörpers, sowie gegenüber Chemotherapeutika.³² Dennoch dürfen Erreger wie *Pseudomonas aeruginosa*, welche eine höhere Gefahr hinsichtlich eines letalen Ausgangs einer Infektion darstellen, nicht außer Acht gelassen werden.^{33 34} Bei der Therapie muss daher auf eine gute Abdeckung des sich anbietenden Keimspektrums geachtet werden.

Virale Infektionen

Neutropene Patienten sind vor allem gefährdet durch Viren aus der Familie der Herpesgruppe wie dem Herpes-Simplex Virus (HSV) Typ I und II. Des Weiteren spielen das Varizella-Zoster Virus (VZV) und das Zytomegalie Virus (CMV) eine wichtige Rolle. Respiratorische Virusinfektionen wie z.B. durch das Respiratory-Syncytial Virus (RSV) oder das Influenza-Virus haben ebenfalls einen großen Anteil und müssen daher beachtet werden. Infektion mit den genannten Erregern können nämlich bei einer bestehenden Neutropenie zu schweren Verläufen führen,

²⁷ (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 288

²⁸ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 769ff

²⁹ (Maziarz & Slater, 2011) Seite 71

³⁰ (Fauci, Braunwald, Kasper et al, 2008) Seite 539

³¹ (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 288

³² (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 296

³³ (Maschmeyer & Braveny, 2000)

³⁴ (Rolston & Tarrand, 1999)

welche unter Umständen zum Tode führen können. Eine Besonderheit bei neutropenen Patienten ist die potentielle Reaktivierung einer Infektion. Dies kommt vor allem bei Herpesviren vor. Der Mechanismus basiert darauf dass nach einer durchgemachten Erstinfektion in der Kindheit sich Viren in Ganglien zurückziehen und dort latent verweilen. Während dieser Latenzphase zeigen sich keine Symptome. Im Rahmen einer Neutropenie kommt es jedoch zur Reaktivierung mit einer erneuten Vermehrung der Viren im entsprechenden Ganglion und im weiteren Verlauf zu einer lebensbedrohlichen Disseminierung. In diesem Zuge kann es neben einem Haut- und Schleimhautbefall auch zu einem Befall verschiedener Organsysteme kommen mit einhergehender Beeinträchtigung deren Funktion. Hierbei sind vor allem Lunge, Leber und Gastrointestinaltrakt (GIT) zu nennen. Beim VZV können sowohl die Varizellen als auch der Zoster sehr schwere Verläufe einschlagen. Es kann zu einem Befall der viszerale Organe kommen bzw. zu einer kutanen Disseminierung. Auch das CMV kann zu einem schweren Befall der viszerale Organe führen mit entsprechender Organ-Funktionsstörung. Bei einem Befall der Lunge zeigt sich das Bild einer interstitiellen Pneumonie. Ist jedoch der GIT betroffen kommt es durch die Schleimhaut-Schädigung zur Ausbildung von Ulcera und einhergehenden Blutungen. Auch ein Befall der Leber oder Ausbildung einer Enzephalitis im Rahmen eines ZNS-Befalls sind möglich.³⁵ Eine Reihe an anti-viralen Wirkstoffen steht zur Behandlung, sowie zur Prophylaxe zur Verfügung.

Pilzinfektionen (Mykosen)

Pilze bzw. Pilzsporen lassen sich unter normalen Umständen nur in der freien Umgebung finden. Wenn sich jedoch Sporen auf Oberflächen oder in der Luft befinden können diese über Kontakt auf die Haut kommen bzw. durch Inhalation aufgenommen werden und vorübergehend die Schleimhaut besiedeln. Bei einem immunkompetenten Menschen führt diese transiente Besiedelung zu keiner Symptomatik. Ist das Immunsystem jedoch beeinträchtigt, wie es bei einem neutropenen Patienten der Fall ist, kann es zu schwersten Infektionen, sogenannten invasiven Mykosen, kommen.³⁶ Hierbei ist jedoch auch die Dauer der neutropenen Phase von entscheidender Bedeutung. Je länger die Neutropenie andauert, desto gravierender steigt das Risiko einer Mykose. Die Diagnostik einer Pilzinfektion gestaltet sich jedoch nicht einfach, da einerseits zur Gewinnung von Material meist minimal-invasive Eingriffe nötig sind, und andererseits der Ansatz einer klassischen Kultur in der Regel kein zufriedenstellendes Ergebnis erbringt. In Abhängigkeit der klinischen Situation des Patienten kann die Materialgewinnung durch Biopsie zu Komplikationen, wie z.B. Blutung, führen. Zu den häufigsten Vertretern von Mykosen bei neutropenen Patienten gehören die Candida- und Aspergillus-Spezies.³⁷ Bei den malignen hämatopoetische Erkrankungen sind vor allem die akuten Leukämien, mit einem Nachweis einer invasiven Pilzinfektion (invasive fungal infection, IFI) in 66% der Fälle, mit einem hohen Risiko assoziiert.³⁸ Des Weiteren zeigt sich besonders bei Patienten mit allogener PBSC eine höhere IFI-Inzidenz-Rate als bei Patienten mit autologer PBSC oder Chemotherapie ohne PBSC. Auch die Gesamtmortalität in Bezug auf IFI ist bei Patienten mit SZ-Tx signifikant höher als bei Patienten mit alleiniger Chemotherapie.³⁹

Die Gattung der Candida gehört zu der Gruppe der Sprosspilze. Der Pathomechanismus der hinter der Candida-Infektion basiert zunächst auf einer lokalen Überwucherung der regulären Flora. Hierbei zeigen sich dann lokale Befunde auf der Haut oder Schleimhaut. In Abhängigkeit des Status des Immunsystems und welcher Aspekt betroffen ist kann der lokale Befund zu einer mukokutanen oder einer disseminiert Candidiasis führen. Kommt es zur Bildung von Mikroabszessen im Rahmen der Disseminierung so kann es zur Funktionseinschränkung des betroffenen Organs kommen bis hin zum Multi-Organversagen.⁴⁰

³⁵ (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 391 ff

³⁶ (Segal, 2009)

³⁷ (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 288

³⁸ (Pagano, Caira, Nosari et al, 2007)

³⁹ (Kurosawa, Yonezumi, Hashino et al, 2012)

⁴⁰ (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 339 ff.

Die Aspergillus-Arten gehören zur Gruppe der Schimmelpilze. Aspergillus-Infektionen stehen an der Spitze der Todesursachen.⁴¹ Die Sporen können wiederum zunächst zu einem lokalen Befall der Haut oder Schleimhaut führen mit Ausbildung einer invasiven Aspergillose (IA) in Abhängigkeit der Abwehrlage. Eine häufige Lokalisation der Manifestation einer IA ist die Lunge. Hierbei kommt es auf Grund der Inhalation der Aspergillus-Sporen zur Ausbildung einer Pneumonie. Kommt es jedoch zu einer Besiedelung der Nasennebenhöhlen (NNH) oder der Orbita besteht die Gefahr einer Ausbreitung in die Schädelhöhle mit Befall des zentralen Nervensystems (ZNS). Kommt es zu einer generalisierten Disseminierung der Infektion können weitere Organsysteme betroffen sein, einhergehend mit der entsprechenden Symptomatik einer Funktionseinschränkung.⁴² Wird die IA nicht entdeckt bzw. medikamentös behandelt zeigt sich eine Mortalitätsrate von 100%. Diese kann jedoch bei rechtzeitiger Diagnose und adäquate Therapie halbiert werden.^{43 44} Die Mortalitätsrate kann jedoch bei rezidivierender IA auf 88% ansteigen.⁴⁵ Daher ist es wichtig Patienten mit entsprechenden Risiko zu erkennen und eine rasche Therapie in die Wege zu leiten. Besonders Patienten welche für mehr als 10 Tage eine ausgeprägte Neutropenie mit <100 Granulozyten/mm³ aufweisen haben eine deutlich erhöhtes Risiko.⁴⁶ Auch wenn weitere Pilzerreger eher selten sind, so sollten diese nicht unbeachtet bleiben. Hierzu zählen Zygomycota, Fusarium spp. und Trichosporon spp.^{47 48}

Prophylaxe

Wegen dem hohen Infektionsrisiko und der hohen Letalität wurde der adäquaten Prophylaxe in den letzten Jahren immer mehr Bedeutung zugeschrieben. Hierzu ist die Implementierung eines entsprechenden Infektionsmanagements äußerst wichtig, welches sowohl den ambulanten als auch stationären Bereich abdeckt. Es ist ein Zusammenspiel von vielen verschiedenen Faktoren, wobei die medikamentöse Prophylaxe einen wichtigen Part des Konstrukts einnimmt. Ein weiterer Hauptpunkt ist die Krankenhaushygiene zusammen mit den allgemein anerkannten Schutzmaßnahmen. Diese sollen einerseits zu einer Expositionsvermeidung gegenüber exogenen Keimen führen, und beinhalten andererseits konkrete Maßnahmen zur Verminderung der endogenen Keimflora. So zählen z.B. das Händewaschen und die Händedesinfektion zu den wichtigsten Schutzmaßnahmen im Rahmen der Expositionsvermeidung. Eine zentrale Rolle kommt der täglichen Überwachung bzw. regelmäßigen Kontrolle (Klinik, Labor, Bildgebung und Mikrobiologie) der Patienten zu, um frühzeitig eine mögliche Ausbildung einer Infektion oder Verschlimmerung abfangen zu können.^{49 50}

Folglich konnte die Infektions-assoziierte Morbidität und Mortalität bei den Patienten gesenkt werden. Zeigte sich bei Leukämie-Patienten 1965 in 84% der Fälle ein positiver Nachweis von Bakterien im Blut, so konnte durch die Einführung der empirischen Antibiotika-Therapie die Fallzahl deutlich vermindert werden und im Verlauf sogar nahezu halbiert werden. So zeigte sich 1972 nur mehr bei 44% der Patienten eine Bakteriämie. Eine weitere Verbesserung ergab der vermehrte Einsatz von Breitband-Antibiotika. Gemäß der Datenlage zeigt sich ein positiver Nachweis in 20% bis 36% der Patienten. Auch der empirische Therapieansatz bei Anti-Mykotika erbrachte einen positiven Effekt, was die Ergebnisse verschiedener Studien belegen. Im Rahmen dieser Studien konnte bei disseminierten Mykosen eine Mortalitätsrate von 7% bis 21% verzeichnet werden.⁵¹

⁴¹ (Azoulay, 2011) Seite 327

⁴² (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 341 ff

⁴³ (Fauci, Braunwald, Kasper et al, 2008) Seite 1260

⁴⁴ (Maziarz & Slater, 2011) Seite 160

⁴⁵ (Offner, Cordonnier, Ljungman et al, 1998)

⁴⁶ (Azoulay, 2011) Seite 327f

⁴⁷ (Maziarz & Slater, 2011) Seite 161ff

⁴⁸ (Wiernik, Goldman, Dutcher et al, 2013) Seite 1151

⁴⁹ (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 288 ff

⁵⁰ (Hiddemann & Bartram, 2010) Seite 770

⁵¹ (Fauci, Braunwald, Kasper et al, 2008) Seite 533

1.7. Granulozyten

1.7.1. Granulopoese

Im Knochenmark werden pluripotente HSCs gebildet, welche im Rahmen der Hämatopoese als Progenitorzelle für alle Blutzellen dienen. Ca. $\frac{3}{4}$ der kernhaltigen Zellen im Knochenmark zielen auf die Produktion von Leukozyten ab. Die Reifung der unterschiedlichen Leukozyten erfolgt über mehrere Stufen und wird durch eine Vielzahl an Wachstumsfaktoren reguliert. Zu diesen Faktoren gehören vor allem die Kolonie stimulierenden Faktoren (CSFs) und die Interleukine (ILs).

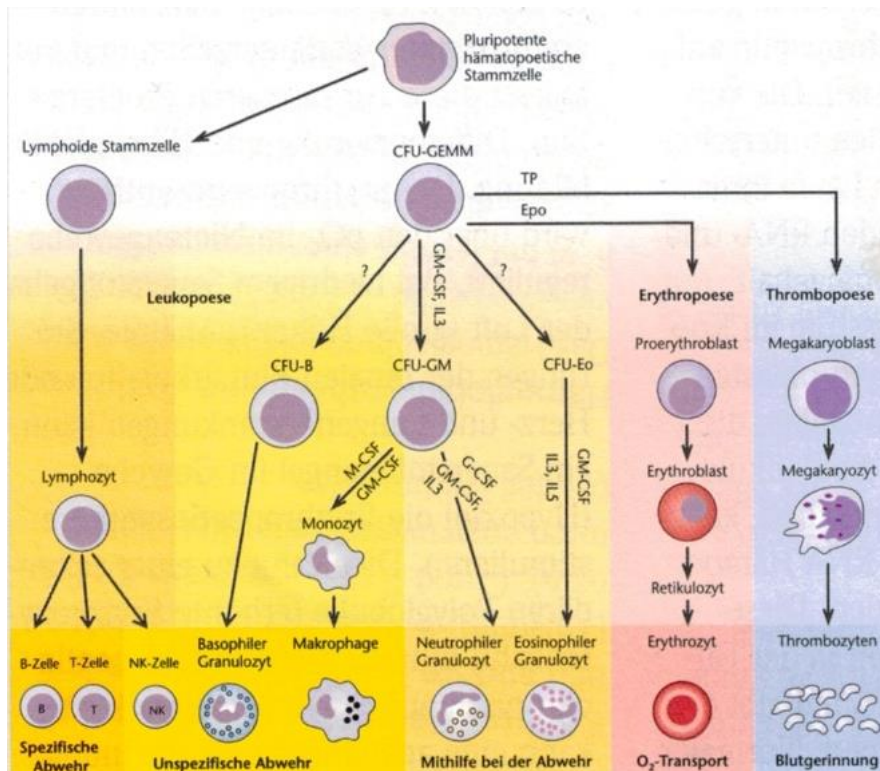


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Hämatopoese⁵²

Normale Leukozyten-Blutwerte liegen in der Regel zwischen $4,3$ und $10,8 \times 10^9/l$. Ein Anteil von 45-74% fällt den segmentkernigen und 0-4% den stabkernigen neutrophilen Granulozyten zu. Der Anteil der Eosinophilen und Basophilen ist ebenfalls gering mit 0-7% bzw. 0-2%. Die Differenzierung zu einer dieser drei reifen Granulozyten-Zellreihen läuft über verschiedene Vorstufen ab. Dieser Prozess wird als Granulopoese bezeichnet. Zunächst entwickelt sich als erste Vorstufe im Knochenmark ein Myeloblast. Dieser ist reich an basophilen Zytoplasma, enthält jedoch noch kein Granula. Im Anschluss daran erfolgt die Differenzierung zum Promyelozyt mit basophilen Zytoplasma und lysosomalen Granula. Der sich nun bildende Myelozyt ist kleiner als seine Vorläuferzellen und bildet spezifisches Granula aus, welches für die Immunmodulation von großer Bedeutung ist. Bereits auf dieser Stufe lässt sich ansatzweise eine Unterscheidung der Granulozyten-Reihen erkennen. Über Ausbildung des Metamyelozyten erfolgt nun die Reifung in stabkernige Granulozyten und im weiteren Verlauf in segmentkernige Granulozyten.

⁵² (Michl, 2005) Seite 3

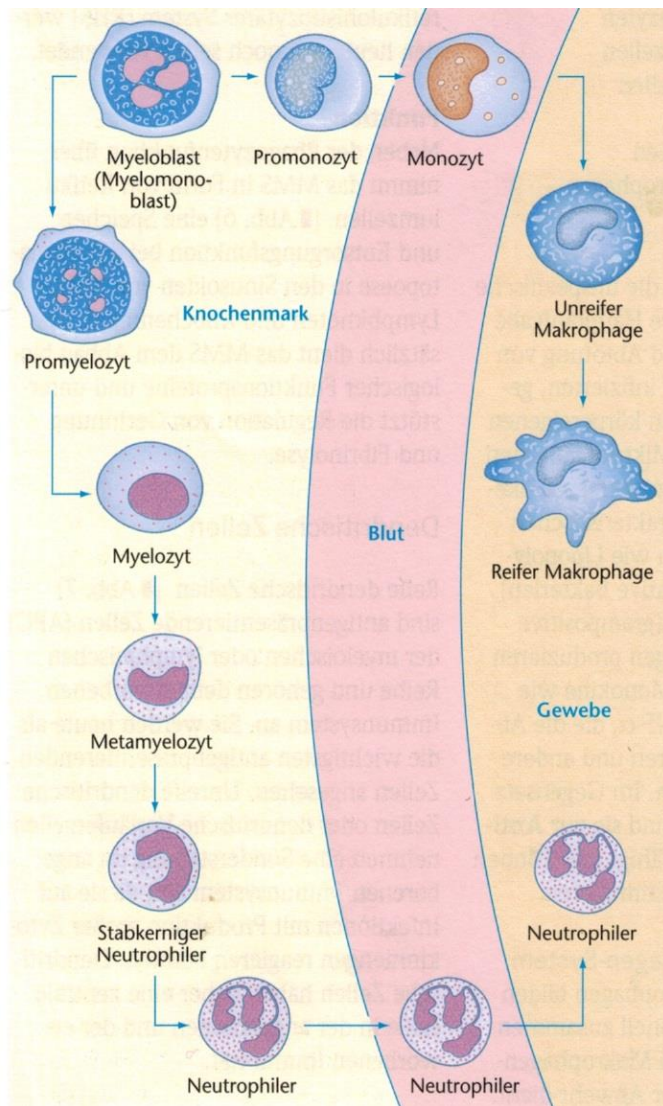


Abbildung 2: Leukopoese⁵³

Sowohl die Proliferationsphase, Abschnitt der Granulopoese bis zur Bildung der Metamyelozyten, als auch die anschließende Reifungsphase dauert jeweils ca. 7 Tage. Im Rahmen der beschriebenen Granulopoese werden bei einem gesunden Menschen mit einem Körpergewicht von 80 kg ca. $1,3 \times 10^{11}$ Zellen pro Tag gebildet, wovon unter normalen Bedingungen ca. 90% im Knochenmark verbleibt, 2-3 % sich im Blut in der Zirkulation befindet und der Rest im Gewebe. Die Halbwertszeit der Granulozyten, welche sich in der Blutzirkulation befinden ist zwischen 6-7 Stunden. Entsprechende Reize können veranlassen, dass es zu einer vermehrten Ausschwemmung der im Knochenmark befindlichen Granulozyten kommt. Zu diesen Signalen gehören Mediatoren wie IL-1, TNF- α , CSF und Komplementfragmente.⁵⁴

1.7.2. Funktion der neutrophilen Granulozyten

Die neutrophilen Granulozyten nehmen eine wichtige Stellung in der Immunabwehr des Menschen ein. Sie enthalten in ihrem Granula ein Gemisch aus verschiedenen Enzymen, wie Hydralasen, Elastasen, Kollagenasen oder Kathepsin G. Diese Enzyme sind entscheidend für die anti-mikrobielle Wirkung.

⁵³ (Michl, 2005) Seite 11

⁵⁴ (Fauci, Braunwald, Kasper et al, 2008) Seite 375 ff

Zusätzlich ist es den neutrophilen Granulozyten möglich auf Grund von Wechselwirkungen zwischen spezifischen Oberflächenmolekülen, den sogenannte Selektinen, am Endothel anzudocken, um im nächsten Schritt zwischen den Endothelzellen in das darunterliegende Gewebe einzuwandern. Bei verletztem Gewebe oder Entzündungen werden vermehrt Selektine produziert und auf der Oberfläche der Endothelzellen präsentiert. So erfolgt auf Basis der kombinierten Mechanismen der Chemokinese und der Chemotaxis die Steuerung der Granulozyten in Richtung des Ausgangspunkts.⁵⁵ Sobald die Zellen an ihrem Zielpunkt angelangt sind erfolgt eine Strukturänderung, wobei Cytosolausläufer ausgebildet werden. Diese gebildeten Pseudopodien umfassen den Fremdkörper und kapseln diesen somit ein. Das entstandene Phagozytom wird in die Zelle aufgenommen und wird im weiteren Verlauf mit Hilfe der oben erwähnten Enzyme abgebaut. Dieser Prozess wird als Phagozytose bezeichnet.⁵⁶ Das folgende Bild verdeutlicht in einer schematischen Darstellung diese Prozesse.

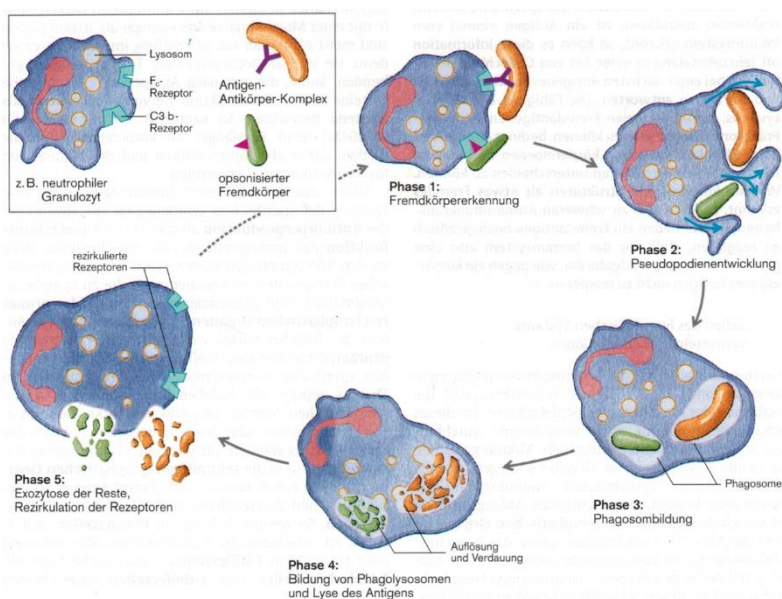


Abbildung 3: Phagozytose durch neutrophilen Granulozyt⁵⁷

1.7.3. Granulocyte-Colony Stimulating Factor (G-CSF)

Bildung

Der G-CSF zählt zu den Mediatoren des Immunsystems, den sogenannten Cytokinen, welche die Differenzierung und Aktivierung der zellulären immunologischen Abwehr des Immunsystems regulieren. Im Speziellen führt er zu einer vermehrten Bildung an neutrophilen Granulozyten.⁵⁸

Aufbau/ Struktur

Der Faktor entspricht einem monomeren Glykoprotein, welches 177 Aminosäuren enthält und einer molekularen Masse von ca. 19,6 kDa entspricht. Die Produktion erfolgt in aktivierten Monozyten und Makrophage, sowie in Fibroblasten und Endothelzellen.⁵⁹ Die genetische Information dieses Polypeptids mit Hormoncharakter befindet sich auf 5 Exons und liegt auf dem Chromosom 17q11-122.^{60 61}

⁵⁵ (Fauci, Braunwald, Kasper et al, 2008) Seite 377 ff

⁵⁶ (Löffler & Petrides, 1998) Seite 883ff

⁵⁷ (Klinke, Silbernagl, & Bauer, 2003) Seite 201

⁵⁸ (Forth, Henschler, & Rummel, 2001) Seite 425

⁵⁹ (Löffler & Petrides, 1998) Seite 764

⁶⁰ (Löffler & Petrides, 1998) Seite 881

⁶¹ (Classen, Diehl & Kochsiek, 1998) Seite 159

1.7.4. Humane recombinant Granulocyte-Colony Stimulating Factor (hr G-CSF)

Wirkstoffe

Moderne Gentechnik-Verfahren ermöglichen der pharmazeutischen Industrie den natürlichen G-CSF in entsprechend großen Mengen zu produzieren, um diesen als Medikament bei klinisch relevanten – angeborenen oder erworbenen - Neutropenien einzusetzen.

Vertreter dieser gentechnisch hergestellten Pharmaka sind die Wirkstoffe Filgrastim (Neupogen®) und Lenograstim (Granocyte®). Filgrastim ist ein nicht-glykolisierter hr G-CSF, welcher gentechnisch in *Escherichia coli* (*E. coli*) Bakterien hergestellt wird. Bei dem Verfahren wird Methionin als zusätzliche N-terminale Aminosäure eingebaut. Des Weiteren fehlt die O-Glykosylierung. Insgesamt besteht der Wachstumsfaktor aus 175 Aminosäuren und einem freien Cysteinrest. Das Molekulargewicht entspricht ca. 18.800 Dalton. Lenograstim hingegen ist glykolisiert und somit dem natürlichen G-CSF identisch. Die Herstellung erfolgt hierbei jedoch in Chinese Hamster Ovary (CHO)-Zellen.

Zu den unerwünschten Nebenwirkungen zählen auf Grund der Knochenmarksexpansion Knochenschmerzen, welche häufig einhergehen mit Kopf- und Rückenschmerzen. Des Weiteren werden Hautreaktionen und Splenomegalien beobachtet, sowie Übelkeit und Erbrechen. In seltenen Fällen kann es sogar zu Nierenversagen kommen, welches jedoch reversibel ist. Im Labor kann sich ein Anstieg der Leberenzyme (LDH und Transaminasen), sowie der alkalischen Phosphatase und der Harnsäure zeigen.^{62 63 64 65}

Indikation

Auf Grund der vermehrten Anwendung des G-CSF in der Hämatologie/Onkologie wurden erstmals 1994 von der „Amerikanischen Gesellschaft für klinische Onkologie“ Leitlinien hinsichtlich dem Einsatz von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren (Hematopoietic Colony-Stimulating Factor, CSF) erarbeitet. Diese wurden mit der Zeit in sogenannten Updates angepasst, unter Einbeziehen der aktuellsten Evidenz-basierten medizinischen Datenlage. Diese Leitlinien unterscheiden verschiedene Indikationsstellungen zur Gabe von Wachstumsfaktoren. Hierbei wird zunächst unterschieden zwischen Präventivmaßnahmen einerseits und therapeutischer Anwendung andererseits. Präventivmaßnahmen können wiederum in zwei große Kategorien eingeteilt werden: primär und sekundär. Diese unterscheiden sich darin ob es sich um den ersten Zyklus einer Chemotherapie handelt oder um einen Folge-Zyklus, wo sich in der Vorgeschichte bereits Komplikationen ergaben im Rahmen einer Neutropenie. Bei der therapeutischen Anwendung wird getrennt ob es Patienten sind mit febriler Neutropenie oder Patienten ohne Temperaturerhöhung. Die Leitlinien gehen auf viele weitere Indikationen zum Gebrauch von Wachstumsfaktoren ein. Hierbei wird unter anderem auf akute Leukämien und myelodysplastische Syndrome eingegangen, sowie die Mobilisierung im Rahmen der Stammzell-Apherese und der Stammzell-Transplantation. Des Weiteren werden Angaben zur empfohlenen Therapiedosis und Dauer gegeben, sowie auf die unterschiedliche Behandlung zwischen Senioren und Kindern hingewiesen.⁶⁶

In Abhängigkeit welche Erkrankung vorliegt, welche Symptomatik sich präsentiert und welche Therapie erfolgt, kann das Behandlungskonzept von der zusätzlichen Gabe von G-CSF profitieren. Hierbei ist vor allem bei Patienten mit Knochenmark- oder Stammzelltransplantation eine ausgesprochene Indikation gegeben.⁶⁷

⁶² (Frölich & Kirch, 2006) Seite 591

⁶³ (Forth, Henschler & Rummel, 2001) Seite 425

⁶⁴ (Zsebo, Cohen, Murdock et al, 1986)

⁶⁵ (Lemmer & Brune, 2006) Seite 185

⁶⁶ (Smith, Khatcheressian, Lyman et al, 2006)

⁶⁷ (Fauci, Braunwald, Kasper et al, 2008) Seite 529

1.8. Granulozytenkonzentrate

1.8.1. Mobilisation

Anfangs wurde im Rahmen der Granulozytenkonzentrat (GK)-Herstellung zur Mobilisation Glukokortikoide bei den Spendern verwendet, mit dem Ziel eines Neutrophilen-Shift aus dem Knochenmark in die Blutzirkulation. Zusätzlich wurde der Übertritt der Granulozyten aus dem peripheren Blut in das Gewebe verlangsamt. Dies hat zur Folge, dass es zu einer vermehrten Anzahl an Neutrophilen im peripheren Blut kommt welche abgesammelt werden können.⁶⁸ Es zeigte sich hierbei jedoch, dass durch derartige Stimulationsregimen keine ausreichende Anzahl an funktionsfähigen Neutrophilen gewonnen werden konnte um eine klinisch effektive Transfusionstherapie mit GKs zu fördern.⁶⁹ Eine Kombination von Dexamethason und einer subkutanen Einzeldosis G-CSF bei gesunden Spendern führte aber zu einer signifikanten Erhöhung der Neutrophilen im peripheren Blut, mit einem Peak 12 Stunden nach Applikation. Eine Studie hinsichtlich der optimalen Dosis zeigte einen Anstieg der absoluten Neutrophilen-Werte von 2.800/μl auf 37.900/μl innerhalb 12 Stunden nach einer subkutanen Applikation von 450 μg in Kombinationen mit 8 mg Dexamethason per os.⁷⁰ Ein zusätzlicher Vorteil der G-CSF liegt in der verbesserten antimikrobiellen Aktivität der Granulozyten.⁷¹

Die unerwünschten Nebenwirkungen bei einer Einzel-Dosis entsprechen denen bei mehrmaliger Gabe, jedoch ist die Inzidenzrate geringer, die Stärke weniger ausgeprägt und die Dauer kürzer. So zeigte sich in einer Phase I/II-Studie von T. H. Price mit 175 Spendern bei 41% leichte bis moderate Knochenschmerzen und bei jeweils 30% Kopfschmerzen bzw. Schlaflosigkeit.⁷² In Abhängigkeit der verwendeten Stimulationsdosis an G-CSF zeigten zwischen 56% bis 76% der Granulozyten-Spender ein oder mehrere Nebenwirkungen, wobei sich eine zunehmende Inzidenz mit steigender Dosis zeigte. Zu den Nebenwirkungen zählen vor allem Muskel- und Knochenschmerzen, Kopfschmerzen, Müdigkeit und Übelkeit. Seltener waren Fieber, Schüttelfrost und Hautrötungen.⁷³ Die Beschwerden zeigten ein gutes Ansprechen auf Analgetika wie Acetaminophen oder Ibuprofen.⁷⁴ Eine Milzruptur zeigte sich in vereinzelt Fällen bei allogenen Stammzellspendern nach einer 5-tägigen Mobilisation mit G-CSF, jedoch wurde diese Nebenwirkung bei Granulozyten-Spendern nicht beobachtet.⁷⁵ Bei den klinisch chemischen Laborwerten konnte eine transienten Erhöhung der alkalischen Phosphatase, Laktatdehydrogenase, Harnsäure und der Transaminasen beobachtet werden.⁷⁶

1.8.2. Spendeckriterien im Rahmen der Produktherstellung

Die Kriterien für die Zulassung zur Spende sind in den "Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)" durch die Bundesärztekammer im Einvernehmen mit dem Paul-Ehrlich Institut festgelegt und wurden im Jahre 2010 im Zuge einer zweiten Richtlinienanpassung aktualisiert. Hierbei werden zunächst die geschlechtsspezifischen Mindestwerte der Spender für das Hämoglobin (Hb) bzw. das Hämatokrits (Hkt) erwähnt, wobei bei Frauen ein Hb-Wert ≥ 125 g/l bzw. ein Hämatokrit-Wert $\geq 0,38$ l/l erforderlich ist und bei Männern ein Hb-Wert ≥ 135 g/l bzw. ein Hämatokrit-Wert $\geq 0,40$ l/l. Das Alter der Spender ist auf den Bereich von 18-68 Jahre beschränkt und das Körpergewicht muss mindestens 50 kg betragen. Der systolische Blutdruck muss im Bereich von 100 bis 180 mmHg liegen mit diastolischen Werten unter 100 mmHg. Die Pulsfrequenz muss unauffällig und in der Regel im Bereich von 50 bis

⁶⁸ (Price & Dale, 1979)

⁶⁹ (Dale, Liles & Price, 1997)

⁷⁰ (Liles, Rodger & Dale, 2000)

⁷¹ (Roilides, Walsh, Pizzo et al, 1991)

⁷² (Price, Bowden, Boeckh et al, 2000)

⁷³ (McCullough, Clay, Herr et al, 1999)

⁷⁴ (De la Rubia, de Arriba, Arbona et al, 2008)

⁷⁵ (Quillen, Byrne, Yau et al, 2009)

⁷⁶ (Frölich & Kirch, 2006) Seite 592

110 Schläge pro Minute liegen. Die Haut muss frei von Läsionen sein, der Spender darf kein Fieber haben und keine erkennbaren Anzeichen für Krankheiten.⁷⁷ Die Anzahl an Leukozyten sollte vor der Mobilisation im Bereich von 3.000/ μ l bis 13.000/ μ l sein, und nach der Mobilisation Werte von 70.000/ μ l nicht überschreiten um den Spender nicht zu gefährden.⁷⁸ Im Weiteren werden auch die Kriterien für einen Dauerausschluss und zeitlich begrenzte Rückstellungskriterien umfangreich in den Richtlinien aufgezeigt.

1.8.3. Weiterverarbeitung und Lagerung

Hergestellte GKs sind zur unverzüglichen Transfusion und dürfen maximal 24 Stunden bei einer Umgebungstemperatur von $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ in Ruhe gelagert werden.^{79 80} Granulozyten-Konzentrate haben mit >2 ml RBCs einen signifikanten Anteil an RBCs und es muss daher vor Transfusion eine erythrozytäre Verträglichkeitsprobe erfolgen.⁸¹ Diese kann bei Bedarf auch um eine leukozytäre Verträglichkeitsprobe erweitert werden. Des Weiteren muss eine Bestrahlung des Präparates mit einer mittleren Dosis von 30 Gy durchgeführt werden auf Grund der großen Anzahl an funktionsfähigen Spenderlymphozyten.⁸² Dies vermeidet die Ausbildung einer Transfusions-assoziierte Graft versus Host Reaktion (ta-GvHD).⁸³

1.8.4. Qualitätskontrollen in Rahmen der pharmazeutischen Freigabe

Im Rahmen der Qualitätskontrolle, welche vor der pharmazeutischen Freigabe durch die Sachkundige Person erfolgen muss, muss zusätzlich zu einer unauffälligen Sicherheitsdiagnostik des Spenders, das Volumen des Produkts nach Herstellung <500 ml und die Anzahl an Granulozyten $>1 \times 10^{10}$ pro Einheit sein.⁸⁴

1.9. Fragestellung

In der oben genannten Ausführung wurden verschiedenen Infektionen aufgezeigt, sowie welche Bedeutung oder gar welche Tragweite diese haben bei einer andauernden Neutropenie.

Es soll untersucht werden, welche Patienten von der Granulozyten-Konzentrat Gabe profitieren. In diesem Zuge wird sowohl der Herstellungsprozess der Granulozytenkonzentrate genauer betrachtet, als auch die klinische Effektivität der hergestellten Produkte. Zur Beurteilung dieser Effektivität wird einerseits der klinische Verlauf des Infekts betrachtet anhand von Vitalparametern, Bildgebung und serologischen Nachweis der Infektion, und andererseits laborchemische Parameter wie das CRP und der Leukozyten-Wert der entsprechenden Patienten im Verlauf. Damit wird untersucht, ob Veränderungen des C-reaktiven Proteins (CRP) einen prognostisch günstigen Parameter für eine frühzeitige Beurteilung der Wirkung der transfundierten Granulozyten darstellen.

⁷⁷ (Bundesärztekammer, 2010) Seite 16

⁷⁸ (Bundesärztekammer, 2010) Seite 28

⁷⁹ (Hübel, Rodger, Gaviria et al, 2005)

⁸⁰ (Schmitt, Reinhardt, Schmitt et al, 2002)

⁸¹ (Price, Benjamin, Distler et al, 2008)

⁸² (Bundesärztekammer, 2009) Seite 63

⁸³ (Ford, Cullen, Lucey et al, 1976)

⁸⁴ (Bundesärztekammer, 2010) Seite 43

2. Material und Methodik

Im Zuge dieser Arbeit wurden retrospektiv Patienten der Klinik für Hämatologie/Onkologie analysiert, welche sich im Laufe ihrer Therapie der Grunderkrankung Leukämie während der neutropenen Phase eine Pilzinfektion zuzogen und daraufhin im Rahmen einer maximalen Therapie GKs erhielten. Hierbei wurden Patienten eingeschlossen, welche sich entweder in der Vorbereitung zu einer allogenen SZ-Tx befanden, direkt vor der Transplantation waren oder bereits transplantiert wurden aber noch ohne Engraftment waren. Der definierte Zeitraum geht von Januar 2011 bis Dezember 2012. Bei Insgesamt 17 Patienten trafen die oben genannten Einschlusskriterien zu.

Die klinischen Daten wurden mit Hilfe der Krankenakten erhoben. Die Daten in Bezug auf die Herstellung der Granulozyten-Konzentrate wurden aus den Spender-Akten entnommen.

2.1. Patienten

Zunächst erfolgt eine Kurzdarstellung der jeweiligen Patientengeschichte. Im Anschluss daran werden die wichtigsten Daten in einer tabellarischen Übersicht (Tabelle 1 bis 3) zusammengefasst.

Patient 1

Bei der im Juli 1970 geborenen Patientin wurde im Juni 2010 die Erstdiagnose einer AML M4 nach FAB gestellt. Es erfolgten noch im selben Jahr drei Konsolidierungstherapien mit Cytarabin, so dass sich eine komplette Remission einstellte. Im September 2011 wurde jedoch ein Früh-Rezidiv diagnostiziert. Zusätzlich zur Rezidiv-Therapie nach dem HAM-Protokoll wurde wegen dem Vorliegen einer Hochrisikosituation bei Frührezidiv die Indikation zur allogenen Stammzell-Transplantation gestellt.

Die Konditionierung wurde zunächst mit Fludarabin, Cytarabin und Amsacrin durchgeführt, gefolgt von der Gabe von Treosulfan und Fludarabin (FLAMSA-RIC modifiziert). Zusätzlich erfolgte auf Grund der Major-Inkompatibilität (Spenderblutgruppe A Rhesus positiv und Patientenblutgruppe O Rhesus positiv) und hoher Anti A-Titer (IgM 1:256 und IgG 1:128) die Gabe von Rituximab, bevor am 08.12.2011 eine allogene Stammzell-Transplantation von $5,9 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG eines HLA-A-Antigen Mismatch Fremdspenders durchgeführt wurde. Der Komorbiditätsindex betrug 3, was mit einem deutlich erhöhten Risiko einherging.

Während der neutropenen Phase nach Transplantation konnte einerseits am 15.12.2011 das Aspergillus-Antigen mit 1,4 Einheiten nachgewiesen werden, und andererseits am 19.12.2011 in der Bildgebung mittels HR-CT der Lunge eine neu aufgetretene Konsolidierung rechts hiliär mit umgebenden Milchglastrübungen eine Pilzpneumonie diagnostiziert werden. Dies führte zur Diagnose einer Aspergillose. Auf Grund der anhaltenden Neutropenie und der Schwere des Infekts wurde die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt mit Gabe an vier aufeinanderfolgenden Tagen.

Am 31.12.2011 zeigte sich schließlich G-CSF gestützt der leukozytäre Take.

Patient 2

Bei der im Juni 2002 geborenen, türkischen Patientin wurde Oktober 2009 im Heimatkrankenhaus in der Türkei eine AML M2 nach FAB diagnostiziert. Diese ist sekundär aus einem MDS entstanden. Zunächst wurde eine Therapie nach AML-BFM eingeleitet. Nachdem sich aber bereits in einer frühzeitigen KMP (Tag 15) keine Anzeichen für eine Remission zeigten, erfolgte die Durchführung eines HAM-Blocks. Zusätzlich wurde auf Grund einer Hochrisikosituation eine Spendersuche für eine geplante allogene Stammzell-Transplantation in die Wege geleitet. Des Weiteren wurde einerseits im Mai 2010 in der Türkei eine Schädelbestrahlung mit 18 Gy durchgeführt, andererseits im folgenden Dezember eine Chemotherapie im Rahmen einer zytoreduktiven Vorphase nach AML BFM 2004 mit Cytarabin und Thioguanin eingeleitet. Dieser Therapie folgte eine

Chemotherapie mit Daunoxome, Clofarabin und Cytarabin (DNX-CLAG). Nachdem sich in der Heimat kein adäquater Spender finden ließ, wurde die Patientin in der KUNO Regensburg vorstellig.

Bereits schon im Dezember 2010 konnte ein Rezidiv der bekannten AML nachgewiesen werden. Auf Grund einer Verschlechterung der pulmonalen Situation der Patientin und Zustand nach Aspergillus-Pneumonie wurde ein CT-Thorax der Lunge angefertigt, wobei sich der Verdacht auf eine erneute Pilzpneumonie bestätigte. Nach klinischer Stabilisierung wurde die Konditionierungstherapie im Februar 2011 mit Amsacrin, Fludarabin, Cytarabin und Treosulfan verabreicht, gefolgt von einer allogenen Knochenmarks-Transplantation am 11.02.2011 mit 20 ml/kg KG. Dies entsprach 350×10^6 Leukozyten/kg KG bzw. $3,6 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG. Am Tag 17 nach Transplantation begann man mit der Gabe von G-CSF, mit einer weiterführenden Gabe für zehn konsekutive Tage.

Der hämatologische Take zeigte sich am 05.03.2011 an Tag+22. Ein Chimärismus des Spenderanteils betrug 100%. Im Verlauf des Weiteren, stationären Aufenthaltes bildete sich eine Haut GvHD^{°1} im Hals- und Thorax-Bereich aus. Trotz lokaler Cortison-Behandlung, kam es zu einer Verschlechterung der Symptomatik so dass eine Prednisolon-Behandlung i.v. nötig wurde. Nach einer raschen Besserung des Befundes wurde die Patientin in die ambulante Weiterbehandlung entlassen. In den Kontroll-KMPs an Tag+117 und Tag+190 war jeweils eine komplette Remission zu verzeichnen.

Im November 2011 stellte sich die Patientin jedoch auf Grund eines seit 2 Wochen anhaltenden Infektes und rezidivierend, subfebrilen Temperaturen erneut in der KUNO vor. Im peripherer Blutaussstrich vom 23.11.2011 (Tag+270) konnte dann der Nachweis myeloischer Blasten entsprechend einer AML FAB M2 erbracht werden. Die Diagnose eines zweiten Rezidivs der AML wurde bestärkt durch das Ergebnis der KMP am selben Tag. Hierbei zeichnete sich das Knochenmark mit einem Anteil pathologischer Blasten von 71% ab, sowie nahezu erloschene Erythropoese und Megakaryopoese.

Im Zuge einer Lumbalpunktion am 28.11.2011 erfolgte daraufhin eine intrathekale Gabe von MTX, Cytarabin und Prednisolon, gefolgt von einer zytostatischen Rezidiv-Chemotherapie mit Cytarabin, Daunorubicin und Etoposid in Kombination mit der Gabe von Mylotarg als antimyeloischer Antikörper. Unter Chemotherapie fieberte die Patientin vermehrt auf und es kam zu einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes einhergehend mit dem Abfall der Sauerstoffsättigung. Laborchemisch konnte ein Anstieg der Entzündungswerte, sowie eine ausgeprägte Neutropenie verzeichnet werden. Eine weitreichende Erregerdiagnostik ergab jedoch kein Nachweis für einen fassbaren Ansatzpunkt der antimikrobiellen Therapie. Lediglich in der Bildgebung mittels CT der Lunge am 02.12.2011 waren pulmonale Infiltrate im Sinne einer Pneumonie zu sehen. Zusätzlich zur maximalen antimikrobiellen Therapie wurden Antipyretika verabreicht, was kurzfristig zu einer Besserung der klinischen Symptomatik führte.

Im Rahmen einer erneuten Verschlechterung kam zu den häufigen Fieberschüben auch Schüttelfrost hinzu. Eine Infektion durch den Hickman-Katheter konnte als Ursache ausgeschlossen werden. Das HR-CT der Lunge vom 19.12.2011 ließ den Ausschluss einer Pilzpneumonie nicht zu, weshalb in Kombination mit der schlechten klinischen Situation, der ausgeprägten Neutropenie und der hohen Entzündungswerten trotz maximaler antimikrobiellen Therapie, die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt wurde. Zusätzlich zu der Gabe der Spender-Granulozyten erfolgte eine Stimulation der Patientin mit G-CSF s.c. Diese Kombination führte schließlich zu einem Anstieg der Leukozyten mit schneller Entfieberung. In der KMP vom 29.12.2011 konnte nur noch ein Blastenanteil von 1% nachgewiesen werden, so dass Anfang 2012 die Konditionierung mit ATG, Thiotepa, Fludarabin und Melphalan begonnen werden konnte. Am 02.02.2012 erfolgte dann die allogene haplo-idente Stammzell-Transplantation der Mutter nach Depletion mit $22,62 \times 10^6$ CD34+Zellen/kg KG. Ein Engraftmentsyndrom konnte durch rasche Intervention verbessert werden.

Der leukozytäre Take zeigte sich am 12.02.2012 (Tag+10), gefolgt vom thrombozytären Take am 13.02.2012 (Tag+11) und dem granulozytären Take am 15.02.2012 (Tag+13).

Patient 3

Bei dem im Mai 1960 geborenen Patienten wurde im November 2006 ein MDS mit Grenzbefund RCMD/RAEB-1 diagnostiziert. Zur weiteren Therapie wurde eine allogenen Stammzell-Transplantation geplant. Aus diesem Grund erfolgte am 13.04.2011 eine Ganzkörper-Radiatio mit 2 Gy im Rahmen der Konditionierung nach dem Minnesota Protokoll, welche mit Fludarabin und Endoxan durchgeführt wurde.

Am 14.04.2011 wurden zwei Cord Blood Einheiten mit einerseits $0,22 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG und andererseits $0,19 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG transplantiert. Der Komorbiditätsindex betrug 0. In der folgenden Neutropenie-Phase zeigte sich eine deutliche Schwellung und Rötung des linken Auges mit Nachweis einer Orbitaphlegmone im Schädel-MRT vom 20.04.2011. Als Ursache kam am ehesten eine mykotische Genese in Frage. Da trotz Eskalation der medikamentösen Therapie keine Besserung eintrat wurde die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt, mit der folgenden Transfusion von drei Produkten. Im weiteren Verlauf zeigte sich eine fast vollständige Rückbildung der phlegmonösen Oberlidentzündung links.

Am 27.04.2011 zeigte sich der leukozytäre Take, gefolgt vom thrombozytären Take.

Patient 4

Bei der im Februar 1956 geborenen Patientin wurde im September 2010 eine AML M1 nach FAB diagnostiziert. Es folgte eine Induktionstherapie nach dem DA-Protokoll mit Cytarabin und Daunorubicin. Während der Neutropenie-Phase kam es zur Entwicklung von Fieber einhergehend mit steigenden Entzündungswerten. Als Fokus ließ sich eine Mucositis im Mund- und Pharynx-Bereich eruieren. Nach Besserung der Symptomatik erfolgte eine zweite Induktionstherapie nach dem DA-Protokoll. Auch hier zeigten sich während der neutropenen Phase Temperaturschübe. Diesmal konnten disseminierten Milchglasnoduli sowie Rundherden in beiden Lungen nachgewiesen werden symptomatisch für eine Pilzpneumonie, bei negativem Aspergillus-Antigen. Im weiteren Verlauf zeigten sich diese Infiltrate nach entsprechender Umstellung der medikamentösen Therapie rückläufig, so dass eine Konsolidierungstherapie mit HD-AraC und Neulasta erfolgen konnte. In der Neutropenie zeigte sich jedoch erneut Fieber sowie Anstieg der Entzündungsparameter. Bei Nachweis von Staphylococcus epidermidis in der zentralen Blutkultur wurde diesmal als Ursache eine Portinfektion eruiert, welche entsprechend therapiert wurde.

Auch nach der zweiten Konsolidierungstherapie mit HD-AraC kam es zu Fieber und steigenden Entzündungswerten. In der Bildgebung mittels HR-CT am 28.01.2011 stellten sich zwar die intrapulmonalen Rundherde größenkonstant dar, die diffusen Milchglasnoduli nahmen jedoch mit Betonung im Mittellappen zu. Da sich bereits vor dem zweiten Zyklus ein beginnendes Rezidiv abzeichnete lag bei der Patientin eine Hochrisikosituation vor, weshalb die Indikation für eine allogene Stammzell-Transplantation gestellt wurde.

Nach einer Re-Induktionstherapie nach dem HAM-Protokoll, sowie der Konditionierung nach dem FBM-Schema mit Fludarabin, BCNU und Melphalan, wurde am 20.04.2011 eine allogene Stammzell-Transplantation vom HLA-identen Fremdspender mit $7,0 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG im Stadium der partiellen Remission durchgeführt. Der Komorbiditätsindex betrug 5, was mit einem deutlich erhöhten Risiko einherging.

Sowohl die leukozytäre als auch die thrombozytäre Regeneration zeigte sich am 06.05.2011.

Bereits am 29.04.2011 konnte das Aspergillus Antigen mit 1,7 Einheiten als positiv nachgewiesen werden. Passend dazu konnte im Thorax-CT am 07.05.2011 neu aufgetretene herdförmige Konsolidierungen im rechten Ober- und Unterlappen mit umgebender Milchglastrübung im Sinne einer angioinvasiven Aspergillose diagnostiziert werden. Diese zeigte sich gemäß der Bildgebung mittels HR-CT der Lunge vom 01.08.2011 im weiteren Verlauf progredient.

Zusätzlich zeigte sich im Juli 2011 ein Frührezidiv. Im Rahmen der Frührezidiv-Therapie erfolgte die Gabe von Cytarabin, gefolgt von einer Re-Konditionierungstherapie mit Cytarabin und Amsacrin. Am 26.07.2011 wurde eine erneute Stammzell-Transplantation von $2,54 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG durchgeführt. Zusätzlich zur progredienten Pilzpneumonie zeigte sich eine Sepsis bei neutropener Colitis, so dass die Indikation zur Gabe von

Granulozyten-Konzentraten gestellt wurde. In der Bildgebung mittels HR-CT unter Kontrastmittelgabe am 09.08.2011 zeigten sich schließlich die entzündlichen Konsolidierungen regredient.

Da jedoch die Blasten im peripheren Blut am 26.Tag nach Re-Transplantation erneut anstiegen erfolgte die Einleitung einer Palliativtherapie am 01.09.2011 mit Litalir und Mitoxantron.

Patient 5

Bei der im März 1958 geborenen Patientin wurde am 07.07.2011 ein MDS RAEB II mit Übergang in eine AML ohne Chromosomenaberration diagnostiziert. Molekulargenetisch zeigte sich jedoch bei FLT 3- und NPM 1-Positivität eine Risikokonstellation, weshalb die Indikation für eine allogene Stammzell-Transplantation gestellt wurde. Zunächst erfolgte die Gabe von Litalir, gefolgt von einer Induktion nach dem HAM-Protokoll mit Cytarabin und Mitoxantron. Während der Panzytopenie wurde auf Grund eines Fieberanstiegs und produktivem Husten am 31.10.2011 eine HR-CT der Lunge angefertigt. Hierbei zeigte sich eine beidseitig basal betonte Pneumonie mit atypischer Komponente, passend zu einer Pilzpneumonie. Zusätzlich zur Umstellung der medikamentösen Therapie wurde die Stammzell-Transplantation um 2 Wochen verschoben. In der Kontroll HR-CT vom 23.11.2011 konnte dann eine deutliche Befundbesserung verzeichnet werden, wobei jedoch weiterhin der Befund einer invasiven Mykose nachweisbar war, so dass im Stadium der kompletten Remission nun die Konditionierung nach dem FBM-Schema mit Fludarabin, BCNU und Melphalan eingeleitet werden konnte. Im Anschluss wurde schließlich die allogene Stammzell-Transplantation am 02.12.2011 mit $4,64 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG eines HLA-C Antigen Mismatch Fremdspenders durchgeführt. Der Komorbiditätsindex betrug 2, was mit einem erhöhten Risiko einherging.

Auf Grund einer Verschlimmerung der Klinik mit respiratorischer Insuffizienz als Folge der progredienten Pilzpneumonie gemäß der radiologischen Bildgebung vom 02.12.2011 folgte die Verlegung auf die Intensivstation für wenige Tage bis zur Stabilisierung. Wegen einer ausbleibender Besserung der klinischen Situation bzw. Progression des pulmonalen Befundes trotz maximaler antimikrobieller Therapie, wurde die Gabe von Granulozyten-Konzentraten in die Wege geleitet. Insgesamt wurde an sieben konsekutiven Tagen jeweils ein Präparat verabreicht. Am 15.12.2011 stellte sich schließlich der leukozytäre Take, gefolgt vom thrombozytären Take am 30.12.2012. In der KMP am 28.12.2011 ließ sich kein Hinweis mehr auf die AML finden.

Einhergehen zur klinischen Besserung konnte man auch in der HR-CT der Lunge Anfang Januar 2012 bildmorphologisch einen deutlich rückläufigen Befund nachweisen, so dass die Patientin in die ambulante Versorgung entlassen werden konnte.

Patient 6

Bei dem im Juni 1944 geborenen Patienten wurde im Juli 2011 eine AML M2 nach FAB diagnostiziert, ohne genetische Auffälligkeiten. Zunächst wurde eine Induktionstherapie nach dem HAM-Protokoll durchgeführt, woraufhin sich eine gute Blasten-Clearance zeigte. Auf Grund einer Verschlechterung des Allgemeinzustandes erfolgte die Wiederaufnahme und Gabe von AraC in der Vorphase, sowie zweite Induktionstherapie nach dem HAM-Protokoll. In der folgenden Panzytopenie zeigten sich febrile Temperaturen ohne Keimnachweis. Am 17.08.2011 zeigten sich zusätzlich im HR-CT kleine milchglasartige Infiltrate im Bereich sämtlicher Lungenabschnitte rechts, welche auf eine Pilzpneumonie schließen ließen. Eine antimikrobielle Therapie wurde entsprechend umgestellt.

Vor Beginn der Re-Induktionstherapie mit FLAMSA wurde eine Therapie mit Litalir begonnen. Auf Grund der Pilzpneumonie in der Vorgeschichte und CT-morphologischen Restherden wurde die antimykotische Therapie angepasst. Im Anschluss wurde eine Konditionierungstherapie mit Treosulfan und Fludarabin gestartet, so dass am 21.10.2011 eine allogene Stammzell-Transplantation von $5,91 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG von einem HLA-

identen Fremdspender durchgeführt werden konnte. Der Komorbiditätsindex betrug 4, was mit einem deutlich erhöhten Risiko einherging.

Bei rezidivierenden Fieberschüben, steigenden Entzündungsparametern sowie der Nachweis einer atypischen Pneumonie im CT-Thorax kam es zu einer adäquaten Umstellung der medikamentösen Therapie. Der Aspergillus-Antigen Nachweis war negativ. Auf Grund der weiterhin steigenden Entzündungswerte musste die Therapie eskaliert werden. Da es trotz dieser Eskalation im weiteren Verlauf zu einer deutlichen Verschlechterung des klinischen Status kam mit kardialer Dekompensation und persistierender Vigilanzminderung, einhergehend mit fehlenden Schutzreflexen, wurde der Patient auf die Intensivstation verlegt und intubiert. In der Bildgebung mittels CCT einerseits konnte ein posteriorer Teilinfarkt, und im CT-Thorax andererseits eine Pilzpneumonie nachgewiesen werden. Auf Grund der vorliegenden Konstellation der Befunde, mittlerweile positiver Nachweis des Aspergillus-Antigens und der ausbleibenden klinischen Besserung bzw. Befundprogredienz trotz maximaler medikamentöser Therapie, wurde die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt.

Unter der laufenden Therapie von GKs wurde am 11.11.2011 eine KMP durchgeführt. Im Punktat zeigte sich eine Aplasie ohne Hinweis auf Blasten-Vermehrung mit Verdacht auf eine Transplantatabstoßung, woraufhin zusätzlich eine Knochenmarkstimulation mittels G-CSF erfolgte, so dass am 24.11.2011 im Sinne eines verzögerten Engraftments ein deutlicher Leukozyten-Anstieg verzeichnet werden konnte. Dies konnte auch durch den Chimärismus im peripheren Blut bestätigt werden.

Trotz des erfolgten, verzögerten Engraftments kam es im weiteren Verlauf zu einer respiratorischen Verschlechterung mit Beatmungsintensivierung und Katecholamin-Pflichtigkeit. Sowohl laborchemisch mit steigendem Aspergillus-Antigen, als auch bildmorphologisch mit Zunahme der Pilzpneumonie konnte eine Progredienz der Pilzinfektion diagnostiziert werden. Zusätzlich kam es zum einem Capillary-leak Syndrom, weshalb eine Steroid-Therapie eingeleitet wurde. Eine Hyperkaliämie konnte nur durch eine Dialyse gebessert werden, jedoch kam es im Zuge der Reanimationspflichtigkeit zu einem weiteren Kaliumanstieg, sowie diffusen bronchialen bzw. intrapulmonalen Blutungen.

Am 29.11.2011 Exitus letalis des Patienten auf der Intensivstation.

Patient 7

Bei dem im September 1949 geborenen Patienten wurde im Juli 2007 ein MDS RAEB I mit einem 5q minus Syndrom diagnostiziert, weshalb eine Therapie mit Lenalidomid eingeleitet wurde. Im Oktober 2010 wurde eine sekundäre AML aus dem MDS nachgewiesen, mit folgender Induktionstherapie nach dem HAM-Protokoll mit AraC und Dexamethason. Hieraufhin zeigte sich eine partielle Remission. Die Konditionierungstherapie erfolgte nach dem FBM-Schema mit Fludarabin, BCNU und Melphalan. Der rasche Fieberanstieg während der Therapie konnte durch einen ESBL und Klebsiellen-Nachweis erklärt und durch eine entsprechender Umstellung der Antibiose rasch in den Griff bekommen werden.

Am 16.11.2010 wurde eine allogene Stammzell-Transplantation mit $3,7 \times 10^6$ CD34+ Zelle/kg KG von einem HLA-A Mismatch Fremdspender durchgeführt. Der Komorbiditätsindex betrug 3, was mit einem deutlich erhöhten Risiko einherging.

Im weiteren Verlauf kam es erneut zu Fieberschüben mit steigenden Entzündungswerten. In der Bildgebung am 01.12.2010 mittels CT-Thorax zeigte sich eine Pilzpneumonie. Passend zu dem radiologischen Befund zeigte sich das Aspergillus-Antigen positiv.

Der leukozytäre Take konnte am 07.12.2010 (Tag+21) nach 6 tägiger Stimulation mit G-CSF verzeichnet werden. In der KMP am 27.07.2011 konnte ein erneuter Übergang des MDS RAEB I in eine sekundäre AML nachgewiesen werden, weshalb eine zweite allogene Stammzell-Transplantation mit Knochenmark in die Wege geleitet wurde. Die Re-Induktionstherapie mit Idarubicin wurde abgebrochen auf Grund der Progression der CT-morphologischen Pilzpneumonie und der klinischen Verschlechterung zur Sepsis hin. Zusätzlich zur Eskalation der medikamentösen Therapie, wurde die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt.

Hierdurch kam es jedoch nur kurzzeitig zu einer Besserung der pulmonalen Situation, weshalb der Patient bei erneuter Verschlechterung der respiratorischen Situation auf die Intensivstation verlegt wurde, wo es zu weiteren Transfusionen von Spender-Granulozyten an drei konsekutiven Tagen kam. Dies führte zwar zu einer Stabilisierung der Oxygenierung, jedoch konnte darüber hinaus keine Besserung der klinischen Symptomatik verzeichnet werden. Am 17.08.2011 Exitus letalis des Patienten auf der Intensivstation.

Patient 8

Bei dem im November 1948 geborenen Patienten wurde im August 2010 ein MDS RAEB-II mit einem komplexen aberranten Karyotyp ohne spezifische molekulargenetische Marker diagnostiziert. Am 28.10.2010 konnte dann der Übergang in eine AML nachgewiesen werden, woraufhin eine Gabe von Vidaza s.c. erfolgte.

Nach Cytarabin Gabe wurde eine Induktionstherapie nach dem HAM-Protokoll mit AraC und Dexamethason eingeleitet, was eine deutliche Zytoreduktion nach sich zog. Da sich in der Bildgebung mittels CT verkalkte pulmonale Rundherde zeigten und der Quantiferontest ein positives Ergebnis aufwies, wurde eine Isoniazidprophylaxe begonnen. In der neutropenen Phase wurde zunächst zusätzlich zur Umstellung der Medikation auch eine ZVK-Neuanlage durchgeführt und im weiteren Verlauf an 6 konsekutiven Tagen G-CSF s.c. verabreicht. Die Blasten-Clearance in der KMP am 07.12.2010 zeigte sich zufriedenstellend. Ein erneuter Fieberschub konnte durch eine atypische Pneumonie mittels Bildgebung durch ein HR-CT der Lunge am 20.12.2010 erklärt und entsprechend behandelt werden. In der KMP am 22.12.2010 zeichnete sich jedoch ein erneuter Blasten-Anstieg ab.

Die Re-Induktionstherapie erfolgte anhand des FLAMSA-BuCy-Protokolls mit Fludarabin, Cytarabin und Aromasin, welche jedoch auf Grund einer Unterschenkelanschwellung links abgebrochen wurde. Im CT zeigte sich eine Myositis, differentialdiagnostisch eine Faszitis. Des Weiteren konnte im HR-CT der Lunge eine atypische Pneumonie, bei möglicher Pilzpneumonie nachgewiesen werden. Auf Grund des ausgedehnten Befundes und der fehlenden Besserung trotz maximaler Therapie, erfolgte die Indikationsstellung zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten.

Nach Stabilisierung der klinischen Situation wurde die Konditionierungstherapie mit Fludarabin, BCNU und Melphalan durchgeführt, so dass am 02.02.2011 im Stadium einer persistierende AML eine allogene Stammzell-Transplantation mit $6,89 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG von einem HLA-identen Fremdspender durchgeführt werden konnte. Der Komorbiditätsindex betrug 2, was mit einem leicht erhöhten Risiko einherging.

Am 20.02.2011 (Tag+18) zeigte sich der leukozytäre Take, gefolgt vom thrombozytären Take am 21.02.2011 (Tag+19). In der KMP vom 03.03.2011 konnte kein Hinweis mehr auf AML-Blasten gefunden werden.

Patient 9

Bei der im Juli 1961 geborenen Patientin wurde im Dezember 2004 eine OMS diagnostiziert. Im Juli 2009 erfolgte dann der Therapiebeginn mit Revlimid und Umstellung auf Prednisolon im September 2009 bei fehlendem Ansprechen. Im Oktober 2010 konnte ein Übergang der OMS in eine AML nachgewiesen werden, bei molekularbiologischer JAK2-V617F Positivität, woraufhin eine Litalir-Therapie begonnen wurde.

Auf Grund der bestehenden Hochrisikosituation wurde die Indikation für eine allogene Stammzell-Transplantation gestellt, so dass eine Induktionstherapie mit Cytarabin eingeleitet wurde, gefolgt von der Konditionierung nach dem FBM-Schema mit Fludarabin, BCNU und Melphalan.

Am 15.02.2011 erfolgte eine allogene Stammzell-Transplantation mit $8,02 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG eines HLA-C Mismatch Fremdspenders. Der Komorbiditätsindex betrug 0.

In der neutropenen Phase kam es zu rezidivierenden Fieberschüben, welche ihre Ursache einerseits in dem Nachweise von *Klebsiella pneumoniae* und VRE in der Blutkultur hatten, und andererseits in dem Nachweis von *Fusarium proliferatum* aus dem NNH Sekret bei progredienter Schwellung im Bereich der rechten Orbita.

Weiterhin lieferte der radiologische Befund des HR-CTs Hinweise für eine Pneumonie mykotischer Genese. Auf Grund der vorliegenden Befunde und ausbleibender Besserung der klinischen Situation trotz maximalen Ausreizung der medikamentösen Therapie wurde die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt. Auf Gabe der Produkte hin zeigten sich eine rasche Besserung der Befunde sowie eine deutlich rückläufige Schwellung.

Am 08.03.2011 (Tag+21) zeigte sich der leukozytäre Take, gefolgt vom thrombozytären Take am 10.03.2011 (Tag+23). In der KMP an Tag+29 zeigte sich kein Hinweis mehr auf blastäre Vorstufen sowie Rückgang der Markfibrose auf Grad II. Auch der Nachweis der JAK2-Kinase Mutation war nicht mehr möglich.

Patient 10

Bei dem im Dezember 1951 geborenen Patienten wurde im Oktober 2009 ein MDS RAEB II mit dominierender Anämie und einer tri-lineären Dysplasie bei unauffälliger Zytogenetik diagnostiziert. Auf Grund einer Hochrisikosituation wurde die Indikation zur allogenen Stammzelltransplantation gestellt. Im Juli 2011 wurde dann die Konditionierungstherapie mit Fludarabin und Endoxan durchgeführt, sowie eine Ganzkörper-Radiatio (TBI) mit 2 Gy entsprechend dem Minnesota-RIC Protokoll eingeleitet.

Am 22.07.2011 wurde eine allogene Stammzell-Transplantation von 2 Cord Blood Einheiten durchgeführt, wobei eine Einheit $3,1 \times 10^7$ MNC/kg hatte, und die andere Einheit $2,49 \times 10^7$ MNC/kg. Der Komorbiditätsindex betrug 6, was mit einem deutlich erhöhten Risiko einherging.

Auf Grund einer Transplantatabstoßung, sowie steigenden Entzündungswerten wurde die Therapie eskaliert. In der HR-CT vom 09.08.2011 zeigte sich im rechten Oberlappen ein Infiltrat, welches aber zunächst nicht einer pilztypischen Pneumonie entsprach. In der BAL, welche im Zuge der Bronchoskopie am 10.08.2011 gewonnen wurde, zeigte sich auch kein Hinweis auf einen spezifischen Erreger. Lediglich in der Candida-PCR konnte ein positiver Nachweis erbracht werden. Im weiteren Verlauf jedoch stellte sich in der HR-CT am 17.08.2011 die Konsolidierung mit umgebenden Milchglas im rechten Oberlappen progredient dar, und war somit bildmorphologisch vereinbar mit einer angioinvasiven Aspergillose. Auch das Aspergillus-Antigen im Serum erbrachte einen positiven Nachweis. Nach Umstellung der Therapie erfolgte eine KMP. Hierbei präsentierte sich ein aplastisches Knochenmark, so dass eine zweite allogene Stammzell-Transplantation nach einer Konditionierung mit Fludarabin und Melphalan am 08.09.2011 mit $8,3 \times 10^6$ CD34+ Zellen /kg KG eines HLA-A Mismatch Fremdspenders erfolgte. Trotz der maximalen antimikrobiellen Therapie kam es zur Sepsis mit akutem Nierenversagen und respiratorischer Insuffizienz, weshalb es zu einer Verlegung auf die Intensivstation kam und die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt wurde. Nachdem eine Besserung der der Symptomatik verzeichnet werden konnte, wurde der Patient wieder auf Normalstation verlegt.

Am 21.09.2011 (Tag +13) zeigte sich der leukozytäre Take. Der thrombozytäre Take war jedoch auf Grund von zytotoxischen HLA-Antikörpern verzögert.

Patient 11

Bei dem im Oktober 1957 geborenen Patienten wurde am 15.11.2011 eine AML M2 nach FAB diagnostiziert, so dass eine Chemotherapie nach dem DA-Schema mit Cytarabin und Daunorubicin gestartet wurde. Diese wurde jedoch auf Grund des Befunds einer PML-RARA-Mutation (AML M3 mit positivem PML-RARA-Rearrangement) abgebrochen, und im weiteren Verlauf auf eine AIDA-Therapie mit Idarubicin und ATRA umgestellt. Nach dem Auftreten eines ATRA Syndroms mit pulmonaler und kardialer Symptomatik wurde auch diese abgebrochen, sowie eine entsprechende medikamentöse Therapie in die Wege geleitet.

Trotz guter Blasten-Clearance und fehlendem Nachweis einer Resterkrankung, wurde auf Grund der schlechten Prognose bei FLT3-Mutation die Indikation für eine allogene Stammzell-Transplantation gestellt. Es folgte eine Chemotherapie nach dem HAM-Protokoll. Wegen der Verschlechterung des Allgemeinzustandes einhergehend

mit steigender Temperatur und Entzündungswerten erfolgte eine engmaschige radiologische Diagnostik. In der Bildgebung am 15.01.2012 mittels HR-CT der Lunge zeigte sich dann eine Zunahme der Verdichtungen in beiden Unterlappen passend zu einer Pilzpneumonie, was sich auch in weiteren CT-Untersuchungen bestätigte. Trotz Eskalation der medikamentösen Therapie kam es zu einer Verschlechterung des Patientenzustandes mit folgender Verlegung auf die Intensivstation, sowie Intubation bei respiratorischer Insuffizienz. Die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten wurde gestellt. Nach einer Stabilisierung des pulmonalen Befundes erfolgte die Extubation des Patienten mit baldiger Verlegung auf Normalstation.

Nach der Konditionierung mit Fludarabin, BCNU und Melphalan wurde am 24.02.2012 im Stadium der partiellen Remission eine allogene Stammzell-Transplantation von 6×10^6 CD34+ Zellen/kg KG von der HLA-identen Schwester durchgeführt. Der Komorbiditätsindex betrug 4, was mit einem deutlich erhöhten Risiko einherging. Am 09.03.2012 (Tag 14+) zeigte sich zunächst der leukozytäre Take, gefolgt vom thrombozytären Take am 19.03.2012 (Tag 24+).

Patient 12

Bei dem im April 1958 geborenen Patienten wurde im September 2011 ein MDS RAEB II diagnostiziert mit Übergang in eine AML am 23.09.2011. Auf Grund hoher Entzündungswerte erfolgte die stationäre Aufnahme, wobei sich im HR-CT eine Pilzpneumonie zeigte. Die Symptomatik besserte sich nach Umstellung der medikamentösen Therapie rasch, so dass eine Induktionstherapie nach dem HAM-Protokoll mit Cytarabin und Mitoxantron begonnen werden konnte. In der KMP vom 16.01.2012 war es jedoch weiterhin möglich den bekannten leukämischen Phänotyp bei 5% der Zellen nachzuweisen, weshalb im weiteren Verlauf eine Konditionierungstherapie mit Fludarabin und Treosulfan durchgeführt wurde.

Am 25.01.2012 wurde eine allogene Stammzell-Transplantation mit $3,24 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG eines Fremdspenders durchgeführt. Der Komorbiditätsindex betrug 6, was mit einem deutlich erhöhten Risiko einherging.

Wegen einer respiratorischen Insuffizienz und akutem Nierenversagen wurde der Patient am gleichen Tag noch auf die Intensivstation verlegt. Trotz der maximalen medikamentösen Therapie zeigte sich in der Bildgebung vom 16.01.2012 und 29.01.2012 im rechten Unterlappen eine Progredienz der Pilzpneumonie, sowie neu aufgetretene Transparenzminderungen im Lungenzentrum beidseits im Sinne einer möglichen Pneumocystis carinii Pneumonie, so dass bei dem sich präsentierenden Gesamtbefund die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt wurde und die Gabe von 6 Produkten innerhalb von 9 Tagen erfolgte. Dies führte zwar zu einem deutlichen Absinken der Entzündungswerte, klinisch jedoch kam es zu einer zunehmenden Minderung der Vigilanz mit Reanimationspflichtigkeit. Im Schädel MRT vom 01.02.2012 zeigte sich dann eine frischere ischämische Läsion im Kleinhirn links. Im weiteren Verlauf stellte sich langsam eine klinische Besserung des Patienten ein, so dass er wieder zurück auf Normalstation verlegt werden konnte.

Im März 2012 zeigte sich jedoch eine akute GvHD der Haut sowie des Gastrointestinal-Trakts vierten Grades mit Exitus letalis am 10.04.2012.

Patient 13

Bei dem im Juli 1961 geborenen Patienten wurde am 20.02.2012 eine sekundäre AML M0 nach FAB aus einem MDS, mit dem zytogenetischen Nachweis einer Trisomie 13 ohne weitere molekulargenetische Auffälligkeiten diagnostiziert. Vor Beginn der Induktionstherapie kam es jedoch zum Anstieg der Entzündungswerte und subfebrilen Temperaturen. Mittels radiologischer Bildgebung erfolgte der Nachweis einer Pneumonie, so dass eine Anpassung der medikamentösen Therapie erfolgte.

Im Anschluss wurde die Induktionstherapie mit Cytarabin und Daunorubicin begonnen. In der folgenden HR-CT der Lunge am 05.03.2012 präsentierten sich die umschriebenen Konsolidierung im Unterlappen links im

Vergleich zur Voruntersuchung unverändert. In den beiden Unterlappen und im rechten Oberlappen zeigten sich jedoch neu aufgetretene Herdläsionen mit perifokaler Milchglastrübung im Sinne einer möglichen Pilzpneumonie. Auf Grund des ausgeprägten radiologischen Befundes und der damit einhergehenden schlechten klinischen Situation wurde die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt. Es erfolgte die Gabe von vier Präparaten an vier konsekutiven Tagen mit Absinken der Entzündungswerte, bei jedoch unverändertem bildmorphologischem Befund. Auf Grund einer respiratorischen Partialinsuffizienz musste der Patient für drei Tage auf die Intensivstation verlegt werden.

Da es zu keinen Änderungen der Infiltrate kam folgte die Gabe von Cytarabin und Mitoxantron nach dem HAM-Schema im Sinne einer Eskalation. Daraufhin war zwar in der KMP am 19.04.2012 zytomorphologisch eine komplette Remission zu verzeichnen, jedoch in der Durchflusszytometrie weiterhin ein Nachweis der vorbeschriebenen Population möglich. Wegen der bestehenden Hochrisikosituation wurde die Indikation zur allogenen Stammzell-Transplantation gestellt, so dass eine Konditionierungstherapie nach dem FBM-Schema mit Fludarabin, BCNU und Melphalan begonnen wurde.

Am 03.05.2012 und 04.05.2012 wurde eine allogene Stammzell-Transplantation von einem HLA-identen Familienspender mit insgesamt $2,43 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG durchgeführt. Der Komorbiditätsindex betrug 4, was mit einem deutlich erhöhten Risiko einherging. Am 22.05.2012 (Tag+19) zeigte sich der leukozytäre Take, wobei sich jedoch der thrombozytäre Take auch bis zum Entlassungstag (Tag+47) nicht einstellte. In der KMP am 31.05.2012 konnte kein Hinweis auf eine Resterkrankung gefunden werden und die pneumonischen Konsolidierungen waren in der radiologischen Untersuchung am 18.06.2012 deutlich rückläufig.

Patient 14

Bei der im Dezember 1956 geborenen Patienten wurde im Oktober 2011 eine T-Pro-Lymphozytenleukämie diagnostiziert. Auf Grund des Progresses der Erkrankung mit Hepatosplenomegalie und einhergehenden Anstieg der Leberparametern, sowie Thrombozytopenie und angedeuteter B-Symptomatik wurden zwei Zyklen Chemotherapie im Rahmen der T-PLL-Studie nach dem A-FMC Schema mit Alemtuzumab, Fludarabin, Mitoxantron und Cyclophosphamid durchgeführt. In der folgenden KMP am 30.05.2012 zeigte sich jedoch eine persistierende Infiltration. Da von einem unzureichenden Ansprechen auszugehen war erfolgte die Umstellung auf Campath mit Planung einer allogenen Stammzell-Transplantation.

Im weiteren Verlauf konnten in der Bildgebung zunächst kleinste, infektiös bedingte Konsolidierung im rechten Oberlappen festgestellt werden, welche sich progredient und bildmorphologisch passend zu Aspergillom-Herden zeigten. Des Weiteren konnte zusätzlich ein Aspergillose-Herd im linken Leberlappen verzeichnet werden, sowie eine toxische Colitis. Histologisch konnte auch eine Infiltration der Leber durch die bekannte T-PLL mit Gerinnungsversagen nachgewiesen werden. Aus diesem Grund wurde eine intensive Polychemotherapie mit Vorphase-Therapie nach B-ALL Schema mit Vincristin, Pentostatin und Campath begonnen. Unter Therapie zeigte sich eine Meningeosis lymphomatosa sowie eine schwere pulmonale Aspergillose. Da sich trotz maximaler antimikrobieller Therapie eine Progredienz zeigte, sowie steigende Aspergillus-Antigen Werte im Serum, wurde die Indikation zur Gabe von Granulozyten-Konzentraten gestellt. Da sich durch die Gabe der Spender-Granulozyten lediglich eine refraktäre Infekt-Situation einstellte und klinisch eine Dickdarminfiltration seitens der Grunderkrankung diagnostiziert werden konnte wurde die Therapie zu Gunsten eines unterstützenden Behandlungskonzepts gewechselt und die Patientin auf Grund der hochpalliativen Situation heimatnah verlegt.

Patient 15

Bei der im November 1954 geborenen Patientin wurde im April 2012 ein MDS diagnostiziert, woraus sich eine sekundäre AML entwickelte. Vor Beginn der Konditionierungstherapie mit Cytarabin, Fludarabin, Amsacrin und Treosulfan zeigten sich bei persistierenden fieberhaften Temperaturen in der Bildgebung mittels CT Zeichen eines Atemwegsinfektes, weshalb die antibiotische Therapie umgestellt wurde.

Am 22.08.2012 erfolgte eine allogene Stammzell-Transplantation mit $8,1 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG von einem Fremdspender mit HLA-A Mismatch. Im weiteren klinischen Verlauf kam es erneut zu Fieber und Anstieg der Infektionsparameter. Bildmorphologisch stellten sich neue multiple Konsolidierungen mit Milchglasarealen dar, passend zu einer Pilzpneumonie, sowie Nachweis eines Pilzbefalls der Milz und der Leber. Auch serologisch konnte das Aspergillus-Antigen nachgewiesen werden, weshalb die antimykotische Therapie entsprechend angepasst wurde. Bei zusätzlich auftretender zervikaler Faszitis kam es zu einer Eskalation der Antibiose und Gabe von Granulozyten-Konzentraten. Auf Grund einer Vigilanzminderung und Desorientiertheit bei zerebralen Aspergillus-Herden und respiratorischer Verschlechterung mit Hämoptoe wurde die Patientin auf Intensivstation verlegt, wo sie wegen mangelnder Oxygenierung intubiert wurde. Nach einer initialen Progredienz der zerebralen Läsion kam es nach Steroid-Gabe zu einer Besserung der klinischen Symptomatik, weshalb die Patientin extubiert und einige Tage später im stabilen Zustand wieder auf Normalstation verlegt werden konnte. Bildmorphologisch jedoch imponierte die Läsion dennoch progredient, einhergehend mit einem steigenden Aspergillus-Antigen Nachweis. Klinisch kam es erneut zu einer Verschlechterung der respiratorischen Situation sowie Hämoptoe, mit Exitus letalis am 03.10.2012.

Patient 16

Bei dem im Oktober 1951 geborenen Patienten wurde im August 2012 eine AML M1 nach FAB diagnostiziert. Des Weiteren zeigten sich eine FLT3-Längenmutation, sowie eine Tandemduplikation des MLL-Gens. Zunächst wurde eine Induktionstherapie nach dem DA-Schema mit Daunorubicin und Cytarabin durchgeführt. Nachdem aber am 31.08.2012 in der KMP trotz sehr guter partieller Remission residuale Leukämiezellen nachgewiesen wurden, erfolgte eine zweite Induktionstherapie nach DA-Schema. Im Laufe der Therapie stellten sich erneut febrile Temperaturen ein, welche sich auch nicht durch eine empirische Antibiose besserten, so dass eine Eskalation der Therapie nötig wurde. Nachdem sowohl in der Bildgebung mittels Kontrastmittel-CT eine angioinvasive Pilzinfektion diagnostiziert werden konnte, als auch ein positiver Aspergillus Antigen-Nachweis in der BAL möglich war erfolgte die entsprechende Umstellung der antimykotischen Therapie. Wegen einer persistierenden Neutropenie und ausbleibender klinischer Besserung erfolgte zusätzlich zur G-CSF Gabe die Transfusion von Granulozyten-Konzentraten, wodurch es zu einer raschen Besserung der klinischen Symptomatik kam mit langsamer Rekonstitution der Leukogenese. Auch bildmorphologisch zeigte sich die Pilzpneumonie regredient. In der KMP vom 02.12.2012 zeigte sich eine hämatologische und molekulargenetische Remission der bekannten AML.

Auf Grund der bestehenden Hochrisikosituation und der hohen Wahrscheinlichkeit einer Rezidiv-Bildung wurde dennoch die Indikation für eine allogene Stammzell-Transplantation gestellt, welche am 11.12.2012 mit $4,49 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG von einem HLA-identen Fremdspender nach Durchführung einer Konditionierungstherapie nach FBM mit Fludarabin, BCNU und Melphalan erfolgte. Am 21.12.2012 (Tag 10+) zeigte sich der thrombozytäre Take, gefolgt vom leukozytären Take am 27.12.2012 (Tag 16+).

Patient 17

Bei der im März 1958 geborenen Patientin wurde im August 2012 eine AML M2 nach FAB ohne zytologische oder molekulargenetische Auffälligkeiten diagnostiziert. Nach der ersten Induktionstherapie nach DA mit

Daunorubicin und Cytarabin konnte in der KMP am 15.09.2012 eine deutliche Restinfiltration nachgewiesen werden. Daraufhin wurde eine zweite Induktionstherapie nach dem HAM-Schema mit Cytarabin und Mitoxantron durchgeführt. Im Anschluss an die Behandlung stellte sich eine Pilzpneumonie ein, weshalb die antimykotische Therapie entsprechend umgestellt wurde. Nachdem sich in der KMP am 30.10.2012 weiterhin eine unzureichende Blasten-Clearance abzeichnete wurde die Indikation zur allogenen Stammzell-Transplantation gestellt.

Nach der Konditionierung nach FLAMSA-Ric mit Fludarabin, Cytarabin und Amsacrin, sowie Treosulfan und Fludarabin im Anschluss, erfolgte die allogene Stammzell-Transplantation $7,35 \times 10^6$ CD34+ Zellen/kg KG von einem Fremdspender mit HLA-C Mismatch. Im weiteren Verlauf kam es erneut zu einer Verschlimmerung der Entzündungswerte im Rahmen einer mykotische Pleuritis sowie neutropenen Colitis. Zusätzlich zur Eskalation der antimikrobiellen Therapie wurden Granulozyten-Konzentrate gegeben. Des Weiteren erfolgte eine forcierte Steroid-Gabe um eine Exazerbation der Colitis im Rahmen einer GvHD zu vermeiden.

Am 07.12.2012 zeigte sich der leukozytäre Take, wobei der thrombozytäre Take zum aktuellen Zeitpunkt noch aussteht.

Patient	Grunderkrankung	Therapie	Neutropenie-Dauer	CT-Befund	Mikrobiologie
1	Früh-Rezidiv bei bekannter AML	Induktion mit HAM Re-Induktion mit FLAMSA Konditionierung mit Treosulfan und Fludarabin	23 Tage	Pilzpneumonie	Aspergillus Ag im Serum
2	Rezidiv bei bekannter AML	Rezidiv-Therapie mit Cytarabin, Daunorubicin und Etoposid Mylotarg Gabe (Antikörper) Konditionierung mit Thiotepa, Fludarabin, Melphalan	13 Tage	Pilzpneumonie	Negativ
3	MDS mit Grenzbefund RCMD/RAEB I	TBI 2 Gy Konditionierung mit Fludarabin und Endoxan	9 Tage	Orbitaphlegmone mykotischer Genese	Negativ
4	Früh-Rezidiv bei bekannter AML	Rezidiv-Therapie mit Cytarabin Re-Konditionierung mit Cytarabin und Amsacrin	8 Tage	Pilzpneumonie	Aspergillus Ag im Serum
5	AML aus MDS RAEB II	Induktion mit HAM Konditionierung mit FBM	9 Tage	Pilzpneumonie	Negativ
6	AML FAB M2	Induktion mit HAM (2x) Re-Induktion mit FLAMSA Konditionierung mit Treosulfan und Fludarabin	22 Tage	Pilzpneumonie	Aspergillus Ag im Serum
7	Früh-Rezidiv bei bekannter AML aus MDS RAEB II	Re-Induktion mit Idarubicin	1 Tag	Pilzpneumonie	Negativ
8	AML aus MDS RAEB II	Induktion mit HAM Re-Induktion mit FLAMSA-BuCy Konditionierung mit FBM	3 Tage	Pilzpneumonie	Pilz-PCR positiv
9	AML aus OMS	Induktion mit Cytarabin Konditionierung nach FBM	16 Tage	Pilzpneumonie Invasive Mykose in der Orbita rechts	Aspergillus Ag im Serum Fusarium proliferatum
10	AML aus MDS RAEB II	Konditionierung mit Fludarabin und Melphalan	55 Tage	Pilzpneumonie	Aspergillus Ag im Serum Candida PCR positiv
11	AML FAB M2	Chemotherapie mit DA Induktion mit AIDA Chemotherapie mit HAM Konditionierung mit FBM	10 Tage	Pilzpneumonie	Negativ
12	AML aus MDS RAEB II	Induktion mit HAM Konditionierung mit Treosulfan und Fludarabin	18 Tage	Pilzpneumonie	Negativ
13	AML M0 aus MDS	Induktion mit DA Intensivierung mit HAM Konditionierung mit FBM	17 Tage	Pilzpneumonie	Negativ
14	P-TLL	Chemotherapie nach A-FMC (2x) Campath mono-Therapie Vorphase-Therapie nach B-ALL Schema	12 Tage	Pilzpneumonie Pilzherd Leber	Aspergillus Ag im Serum
15	AML aus MDS	Konditionierung Cytarabin, Fludarabin, Amsacrin und Treosulfan	18 Tage	Pilzpneumonie Pilzherd Leber, Milz, Hirn	Aspergillus Ag im Serum
16	AML FAB M1	Induktion mit DA (2x) Konditionierung nach FBM	42 Tage	Pilzpneumonie	Aspergillus Ag im Serum
17	AML FAB M2	Induktion mit DA Induktion mit HAM Konditionierung mit FLAMSA-Ric	17 Tage	Pilzpneumonie	Negativ

Tabelle 1: Zusammenfassung über Grunderkrankung, Therapie und Diagnostik

Patient	Komorbiditäts-index	Transplantat	Zellzahl [CD34+ Zellen/kg KG]
1	3	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$5,9 \times 10^6$
2	n.b.	SZ-Tx (allogene haplo-idente Familienspende der Mutter)	$22,62 \times 10^6$
3	0	CB-Tx von 2CBU (allogen, Fremdspender)	$0,22 \times 10^6$ $0,19 \times 10^6$
4	5	SZ-Tx (allogen, Fremdspender) Re SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$7,0 \times 10^6$ $2,54 \times 10^6$
5	2	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$4,64 \times 10^6$
6	4	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$5,91 \times 10^6$
7	3	SZ-Tx geplant (2. allogene Fremdspender geplant)	--
8	2	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$6,89 \times 10^6$
9	0	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$8,02 \times 10^6$
10	6	CB-Tx von 2CBU (allogen, Fremdspender) SZ-Tx(allogen, Fremdspender)	$3,1 \times 10^7$ MNC/kg $2,49 \times 10^7$ MNC/kg $8,3 \times 10^6$
11	4	SZ-Tx (allogen, Familienspende der Schwester)	$6,0 \times 10^6$
12	6	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$3,24 \times 10^6$
13	4	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$2,43 \times 10^6$
14	n.b.	SZ-Tx geplant (Familienspende geplant)	--
15	2	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$8,1 \times 10^6$
16	1	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$4,49 \times 10^6$
17	3	SZ-Tx (allogen, Fremdspender)	$7,35 \times 10^6$

Tabelle 2: Zusammenfassung über Transplantat

Patient	Leukozytärer Take	Tag	Thrombozytärer Take	Tag
1	31.12.2011	23	05.01.2012	28
2	12.02.2012	10	13.02.2012	11
3	27.04.2011	13	09.05.2011	25
4	In der KMP (Tag +26) nach der zweiten allogenen SZ-Tx erneut Blasten Umstieg auf Palliativ-Therapie			
5	15.12.2011	13	30.12.2011	28
6	26.11.2011	36	n.e. (Exitus letalis)	--
7	Früh-Rezidiv mit geplanter zweiter allogener SZ-Tx Exitus letalis vor zweiter Tx			
8	20.02.2011	18	21.02.2011	19
9	08.03.2011	21	10.03.2011	23
10	21.09.2011	13	Verzögert, n.e. bei Entlassung (+41)	--
11	09.03.2012	14	19.03.2012	24
12	14.02.2012 Kompletter Spender-Chimärismus	20	14.02.2012 Kompletter Spender-Chimärismus	20
13	22.05.2012	19	Verzögert, n.e. bei Entlassung (+47)	--
14	Umstieg auf Palliativ-Therapie vor geplanter allogener SZ-Tx Verlegung ins Hospiz			
15	n.e. (Exitus letalis)	--	n.e. (Exitus letalis)	--
16	27.12.2012	16	21.12.2012	10
17	07.12.2012	17	Verzögert, n.e. bei Entlassung (+40)	--

Tabelle 3: Zusammenfassung über leukozytären und thrombozytären Take

2.2. Mobilisation der Spender am Universitätsklinikum Regensburg

Ein Spende-Zyklus beinhaltete jeweils eine Granulozyten-Apherese für den Spender an zwei aufeinanderfolgenden Tagen. Damit an beiden Tagen eine ausreichende Menge an neutrophilen Granulozyten (nG) im Spenderblut vorhanden waren, um die vorgegebene Spezifikation gemäß der Richtlinien der Bundesärztekammer⁸⁵ von mindestens 1×10^{10} nG pro Einheit einhalten zu können, führten wir bei den vorgesehenen Spendern vor der geplanten Apherese für den entsprechenden Spende-Zyklus eine duale Mobilisation durch. Diese bestand aus einer einmaligen Gabe von 48 Mio. Einheiten G-CSF s.c. in Kombination mit 8 mg Methylprednisolon p.o. ca. 12 Stunden vor der ersten Spende und eine erneute Gabe von 4 mg Methylprednisolon p.o. ca. 12 Stunden vor der zweiten Spende.^{86 87 88 89}

⁸⁵ (Bundesärztekammer, 2010) Seite 43

⁸⁶ (Liles, Rodger & Dale, 2000)

⁸⁷ (Jendiroba, Lichtiger, Anaissie et al, 1998)

⁸⁸ (Liles, Huang, Llewellyn et al, 1997)

⁸⁹ (Kessler, Goudeva & Heuft, 2011)

2.3. Granulozyten-Apherese

Die Granulozyten-Konzentrate wurden in der transfusionsmedizinischen Einheit des Instituts für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg durch Apherese hergestellt. Diese erfolgte mittels der COBE®Spectra™ der Firma Terumo BCT als Zellseparator unter Verwendung des MNZ-Programms und eines Zwei-Nadel Schlauchsystems. Nach der Entnahme des Spender-Vollbluts wird dieses über ein zuleitendes Schlauchsystem in die Zentrifugen-Kammer geleitet, wo eine Auftrennung in die einzelnen Blutbestandteile entsprechend dem unterschiedlichen spezifischen Gewicht erfolgt. Das spezifische Gewicht der Erythrozyten (RBCs) ist abhängig von ihrem Lebensalter und liegt zwischen 1,093 und 1,096. Granulozyten liegen im benachbarten Bereich von 1,087 bis 1,092.⁹⁰ Eine klare Trennung der Zellreihen ist selbst bei einer Zentrifugation mit einer hohen Zahl an Umdrehungen pro Minute nicht exakt.

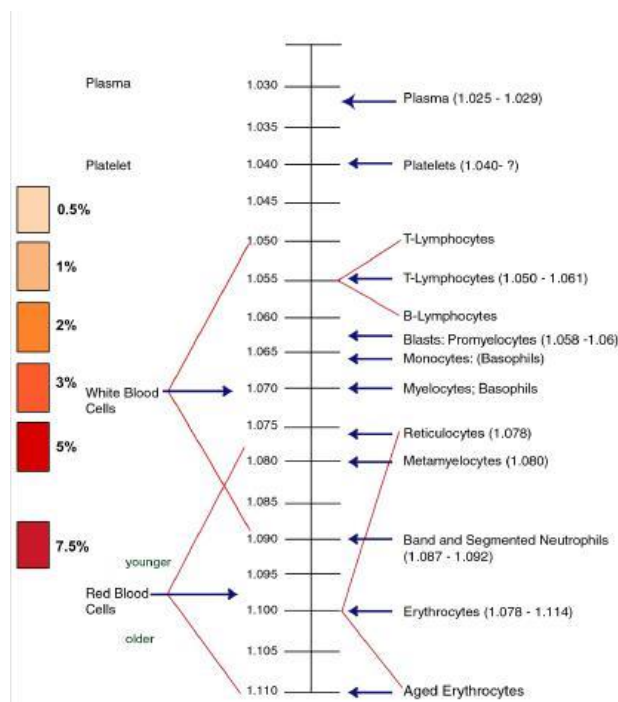


Abbildung 4: Spezifisches Gewicht der Blutbestandteile⁹¹

Die Erythrozyten werden auf Grund ihres erhöhten spezifischen Gewichts durch die Zentrifugal- und Beschleunigungskraft an die Außenwand des Zentrifugen-Schlauchs gedrückt, während das Plasma an der Schlauchinnenseite der Zentrifugen-Kammer verbleibt. Die Zwischenschicht bildet der sogenannte Buffy-Coat. Die gewünschten neutrophilen Granulozyten befinden sich im untersten Bereich des Buffy-Coats am Übergang zur Erythrozytenschicht.

⁹⁰ (Winters, 2008) Seite 42

⁹¹ ("COBE Spectra Apheresesystem - Schulungsarbeitsbuch MNZ Programm," 2004) Seite 39

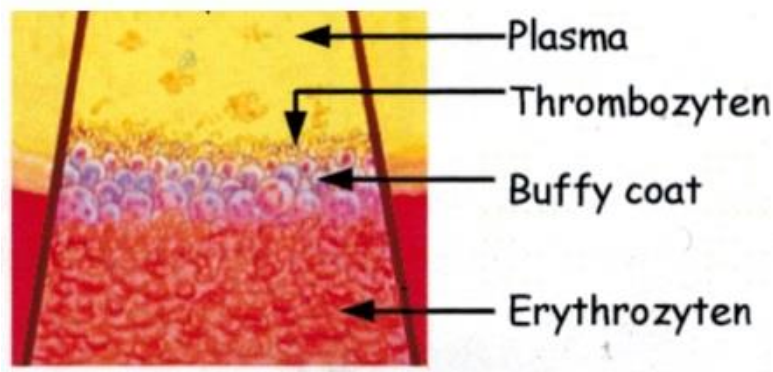


Abbildung 5: Blutkomponenten⁹²

Um genau diese Schicht, die sogenannte Schnittstelle zu erhalten muss ein Hämatokrit von ca. 5% in der Sammelleitung eingestellt werden. Über eine entsprechende Veränderung der Flussrate der Plasma-Pumpe wird der Hämatokrit in der Sammelleitung reguliert. Die Bestimmung des Hämatokrits erfolgt visuell anhand eines Colorgrams.

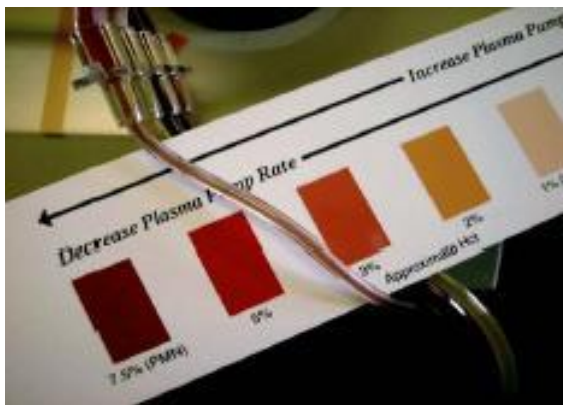


Abbildung 6: Überwachung der Schnittstelle mittels Colorgram⁹³

Um eine für den Spender Erythrozyten-sparende Sammlung durchführen zu können, wird ein Sedimentationsbeschleuniger verwendet. Dies ist ein Gemisch aus 64,2 ml Natriumzitrat, Sercit 1M der Firma Serag-Wiessner KG, und 435,8 ml Hespan 6% mit einem Molekulargewicht von 450.000 Da der Firma B. Braun Medical Inc.⁹⁴ Die hochmolekulare Hydroxyethyl-Stärke (HAES) führt dazu, dass sich die Erythrozyten wie Geldrollen aneinander legen (Rouleaux-Formation) und somit die Sedimentationsrate auf Grund des erhöhten Gewichts im Zentrifugen-Kanal erhöht wird. Dies führt zu einer besseren Trennung der RBCs und der PMNs, sowie einer RBC-schonenden Sammlung.^{95 96 97 98} Das Natriumzitrat dient als Antikoagulant und soll die Koagulation innerhalb des Schlauchsystems verhindern. Da sowohl auf das Natriumzitrat als auch auf das Hespan 6% allergische Reaktionen auftreten können, wurde dies im Rahmen der Spender-Aufklärung mit angesprochen. Spender mit einer bekannten Unverträglichkeit hinsichtlich einer der Stoffe wurden nicht zur Spende zugelassen.

⁹² ("COBE Spectra Apheresesystem - Schulungsarbeitsbuch MNZ Programm," 2004) Seite 40

⁹³ ("COBE Spectra Apheresesystem - Schulungsarbeitsbuch MNZ Programm," 2004) Seite 39

⁹⁴ (Bryant, Yau, Byrne et al, 2010)

⁹⁵ (Winters, 2008) Seite 41

⁹⁶ (Rock & McCombie, 1985)

⁹⁷ (Bryant, Yau, Byrne et al, 2010)

⁹⁸ (Lee, Leitman & Klein, 1995)

3. Ergebnisse

3.1. Spender

3.1.1. Spender-spezifische Parameter

In den Jahren 2011 und 2012 wurden in der Transfusionsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg 57 männliche Spender zur Granulozyten-Spende für 17 Patienten der hämatologisch/onkologischen Abteilung herangezogen, wobei es zu einer Herstellung von insgesamt 99 GKs mit anschließender, unverzüglicher Transfusion nach erfolgter pharmazeutischer Freigabe kam. Die folgende Tabelle gibt einen Überblick über Spender-spezifische Parameter wie Alter, Gewicht, Größe und behandeltes Gesamtblutvolumen.

	2011	2012	Insgesamt
Geschlecht:			
Männlich	36	21	57
Weiblich	0	0	0
Altersverteilung [a]:			
Minimum	20	20	20
Maximum	48	44	48
Durchschnitt	29	27	28
Alter [a]:			
<30 Jahre	22	16	38
30-39 Jahre	11	4	15
40-49 Jahre	3	1	4
>50 Jahre	0	0	0
Gewicht [kg]:			
Minimum	65	60	60
Maximum	105	90	105
Durchschnitt	80	77,5	79,1
Größe [cm]:			
Minimum	167	170	167
Maximum	198	192	198
Durchschnitt	181,7	182,1	181,85
Gesamtblutvolumen [ml]:			
Minimum	4467	4338	4338
Maximum	6542	6017	6542
Durchschnitt	5392	5322	5366

Tabelle 4: Spender-spezifische Parameter

3.1.2. Blutwerte vor Apherese

Vor jeder Spende wurde aus dem peripheren Blut eine Bestimmung des Tages-aktuellen Blutbildes durchgeführt. Dies diente zur Kontrolle des Stimulationserfolges vor der jeweiligen Spende, sowie zur Sicherung dass die Vorgaben der Bundesärztekammer gemäß der „Richtlinie zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)“ hinsichtlich Hämoglobin (Hb) und Hämatokrit (Hkt) bei der Herstellung der GKs eingehalten werden.⁹⁹

⁹⁹ (Bundesärztekammer, 2010) Seite 16

Die anschließende Tabelle verdeutlicht eine zufriedenstellende Stimulation bei den Spendern mit dem Schema der dualen Mobilisation. Hierbei konnten Durchschnittswerte von 20,86 bis 34,98 Leukozyten/nl erzielt werden. In fünf Fällen wurden Spender zugelassen trotz leicht erniedrigter Hb-Werte von bis zu 12,5 g/dl. In diesen Ausnahmesituationen konnte jedoch entweder ein zufriedenstellender Hkt von >40% verzeichnet werden oder es lag eine vitale Indikation von Seiten der Kliniker vor.

	2011 Tag1	2011 Tag 2	2012 Tag 1	2012 Tag 2	Insgesamt Tag 1	Insgesamt Tag 2
Leukozyten [/nl]:						
Minimum	18,95	12,72	24,12	15,53	18,95	12,72
Maximum	56,41	36,1	44,5	25,69	56,41	36,1
Durchschnitt	34,98	21,82	32,42	20,86	34,05	21,53
Hb [g/dl]:						
Minimum	13,4	12,5	14,0	13,1	13,4	12,5
Maximum	17,8	15,4	16,3	14,7	17,8	15,4
Durchschnitt	15,81	14,21	15,01	13,95	15,52	14,12

Tabelle 5: Hämoglobin- und Leukozyten-Werte vor Apherese

Zusätzlich zur tabellarischen Darstellung werden die Ergebnisse in einem Boxplot-Diagramm dargestellt. Der helle Balken entspricht dem Median, der gräuliche Kasten dem Bereich zwischen dem 1. und 3. Quartil und die Striche dem Minimum bzw. Maximum.

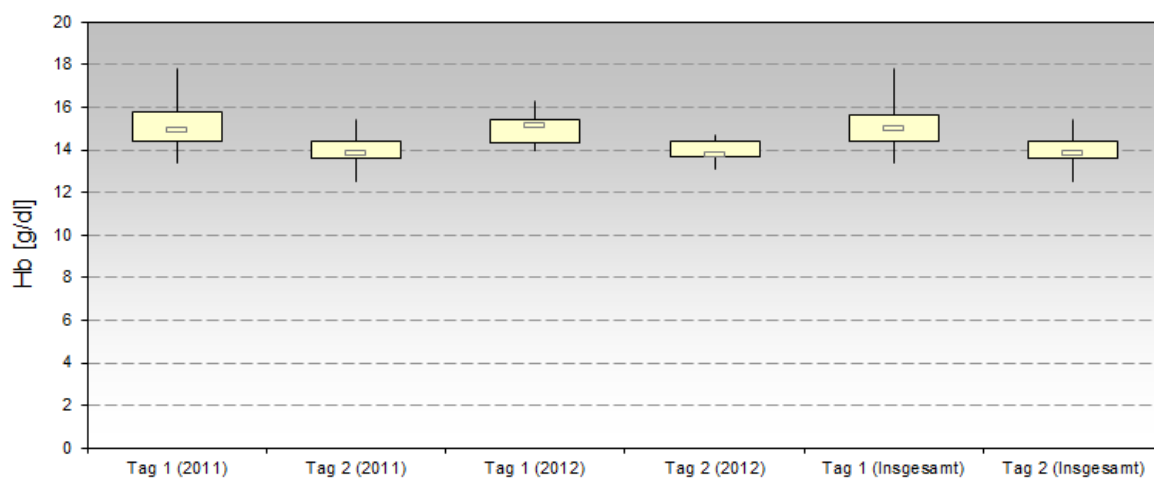


Abbildung 7: Boxplot Diagramm der Hämoglobin-Werte vor Apherese

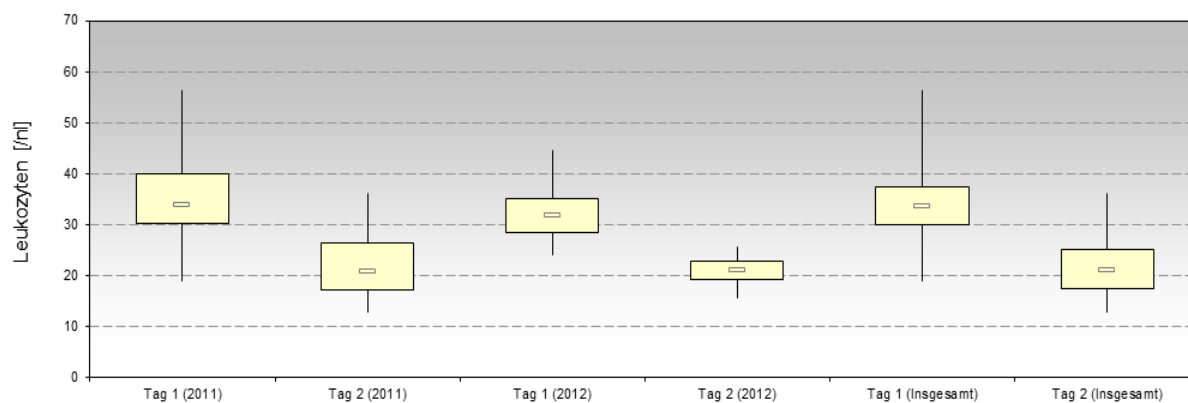


Abbildung 8: Boxplot Diagramm der Leukozyten-Werte vor Apherese

3.2. Granulozyten-Konzentrat

3.2.1. Spezifische Parameter der Granulozyten-Konzentrate

Von jedem der 99 hergestellten GKs wurde im Rahmen der Qualitätskontrolle und der pharmazeutischen Freigabe eine Blutbild-Analyse am Sysmex® durchgeführt. Hierzu wurde nach der Herstellung das Produkt sorgsam durchmischt und eine entsprechende Konzentrat-Probe gemäß Herstellungsanweisung (SOP) entnommen. Dieser Vorgang erfolgt unter sterilen Bedingungen, um eine mögliche Gefährdung des Produktes zu vermeiden. Bei der Qualitätskontrolle werden vor allem die Werte der weißen Blutkörperchen (WBCs) und der verschiedenen Granulozyten-Subpopulationen, insbesondere der neutrophilen Granulozyten (nG), genauer betrachtet und in einem entsprechenden Prüfprotokoll dokumentiert. Die Tabelle fasst die wichtigsten Werte der spezifischen Parameter der GKs zusammen.

	Tag 1 (2011)	Tag 2 (2011)	Tag 1 (2012)	Tag 2 (2012)	Insgesamt Tag 1	Insgesamt Tag 2
WBCs [10 ³ /μl]:						
Minimum	67,48	100,72	189,1	127,76	67,48	100,72
Maximum	411,97	253,86	299,86	193,84	411,97	253,86
Durchschnitt	256,18	157,68	239,33	157,42	249,9	157,6
nG [10 ³ /μl]:						
Minimum	35,76	72,22	158,18	77,37	35,76	72,22
Maximum	381,4	213,18	269,17	148,83	381,4	213,18
Durchschnitt	220,48	120,83	209,81	118,76	216,5	120,12
Volumen [ml]:						
Minimum	173	274	274	277	173	274
Maximum	364	339	347	333	364	339
Durchschnitt	307,66	307,88	312,27	305,1	309,33	306,92
nG [10 ⁸ /kg KG]						
Minimum	1,5	2,86	6,0	3,12	1,5	2,86
Maximum	18,4	9,9	14,2	7,92	18,4	9,9
Durchschnitt	9,28	5,24	9,61	5,79	9,4	5,43
Granulozyten [10 ¹⁰ /Einheit]						
Minimum	1,26	2,3	4,48	2,3	1,26	2,3
Maximum	12,58	6,72	8,7	4,74	12,58	6,72
Durchschnitt	6,7	3,68	6,56	3,69	6,65	3,68

Tabelle 6: Spezifische Parameter der Granulozyten-Konzentrate

Auch diese Ergebnisse werden zu einer besseren Übersicht im Folgenden in einem entsprechenden Boxplot-Diagramm dargestellt.

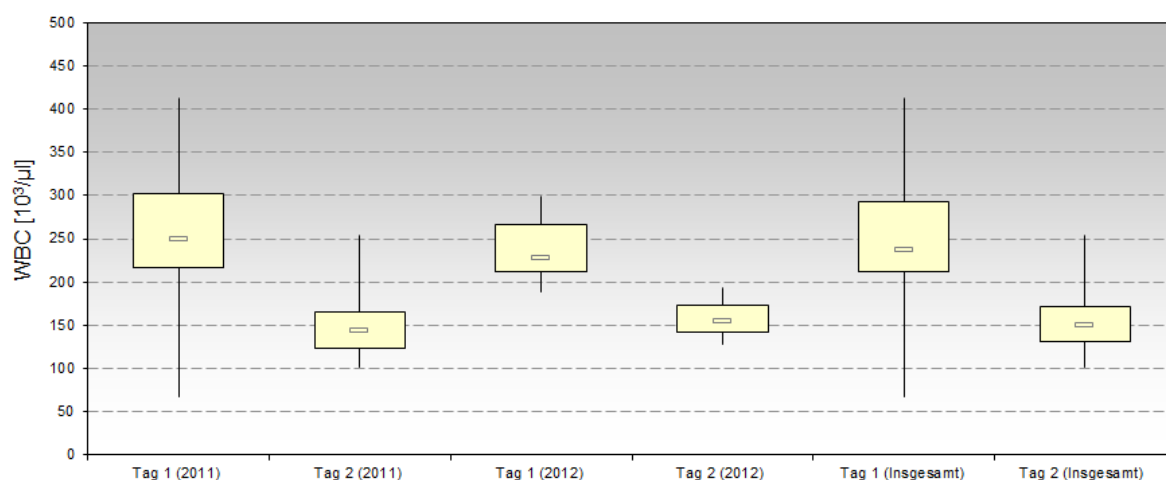


Abbildung 9: Boxplot Diagramm der WBCs in den Granulozyten-Konzentraten

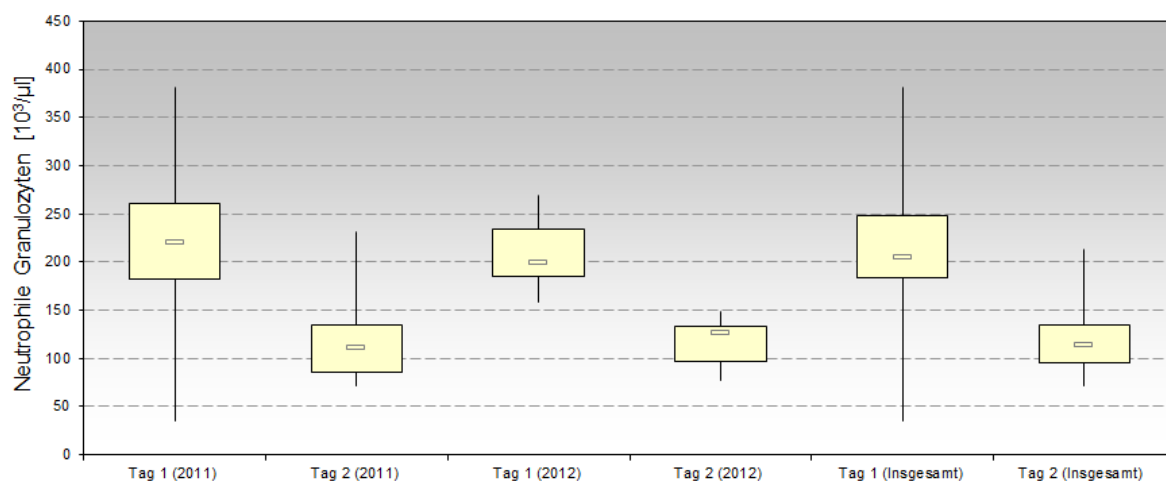


Abbildung 10: Boxplot Diagramm der nG in den Granulozyten-Konzentraten

Sowohl bei den WBCs als auch bei den nG in den GKs sieht man deutlich den Unterschied zwischen dem ersten und dem zweiten Apherese-Tag, welche ein proportionales Verhalten zeigten zu der Anzahl der Leukozyten-Werte im peripheren Blut. Des Weiteren lagen die Volumina der einzelnen Produkte konstant im Bereich von ca. 300 ml und befanden sich dementsprechend innerhalb der Spezifikation, welche vorschreibt dass ein Volumen von 500 ml nicht überschritten werden darf.¹⁰⁰ Die Ausnahme stellte ein Produkt im Jahre 2011 dar, welches mit einem Volumen von nur 173 ml unterhalb der restlichen Produkte lag.

¹⁰⁰ (Bundesärztekammer, 2010) Seite 43

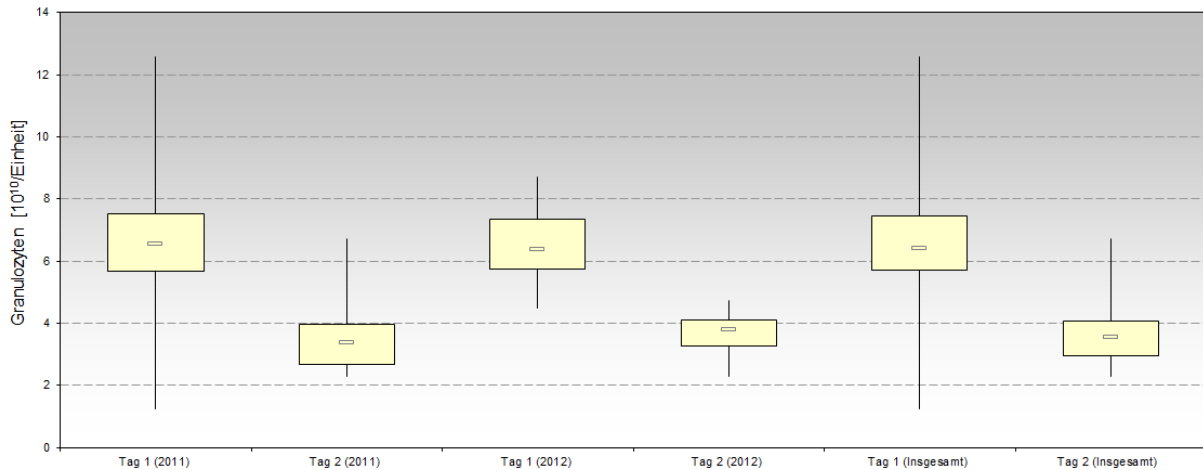


Abbildung 11: Boxplot Diagramm der Granulozyten pro Einheit

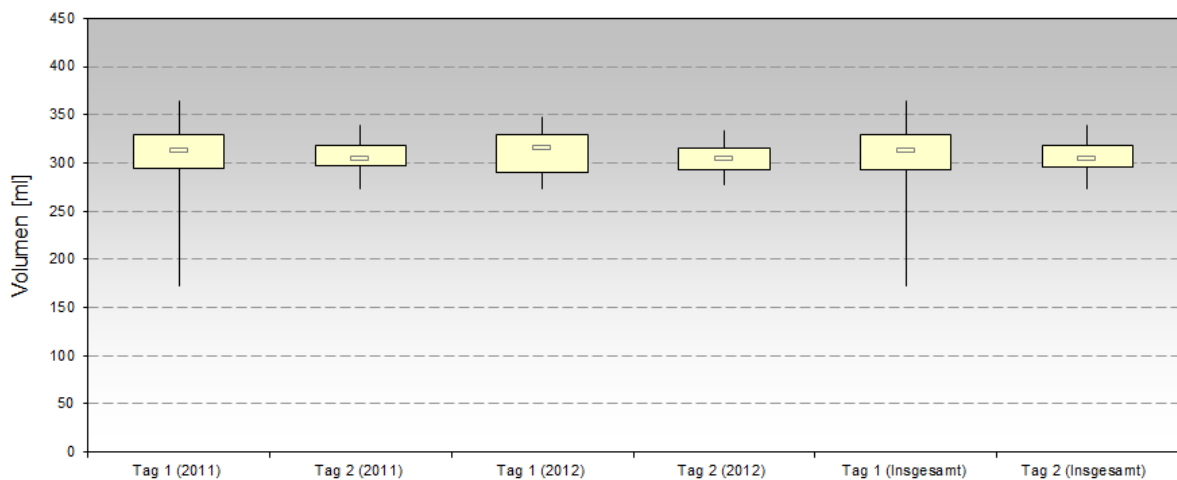


Abbildung 12: Boxplot Diagramm der Volumina der Granulozyten-Konzentrate

3.3. Patienten

Zusammenfassung der Granulozyten-Konzentrate anhand Patientenparameter

Zunächst einmal werden die drei wichtigsten Parameter der hergestellten GKs zusammengefasst und in einem Boxplot-Diagramm dargestellt. Zu diesen Parametern zählen neben der Angabe an Granulozyten pro Einheit die Anzahl der nG pro kg KG und pro m² Körperoberfläche (KOF) der Patienten. Die Berechnung der KOF der Patienten basiert auf einem Artikel von R. D. Mollerster. Die verwendete Formel¹⁰¹ lautet:

$$KOF = \sqrt{\frac{Größe [cm] \times Gewicht[kg]}{3600}}$$

Die Formel wurde auf der Internet-Seite des „Labor Limbach“ als Logarithmus hinterlegt und zur Berechnung herangezogen.¹⁰²

¹⁰¹ (Mosteller, 1987)

¹⁰² Labor Limbach. URL http://www.labor-limbach.de/Berechnung_Koerperob.127.0.html Stand: 26.05.2013

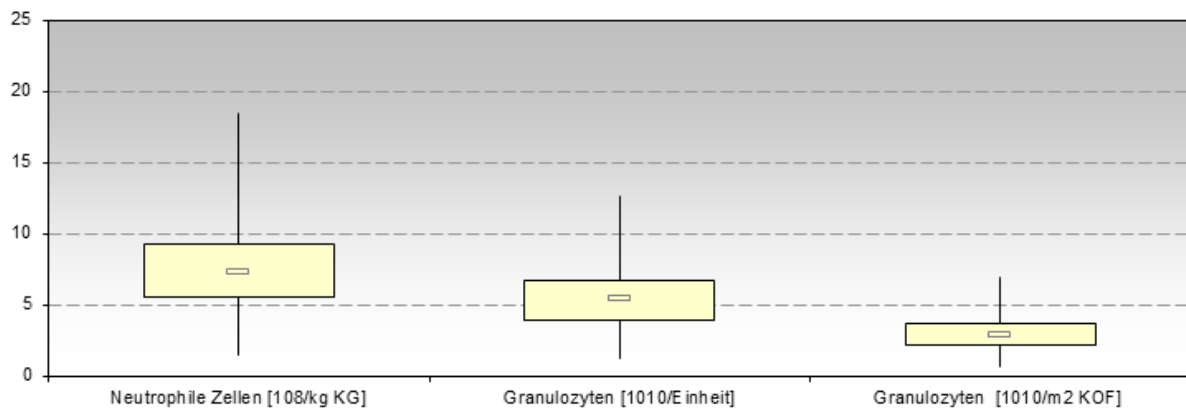


Abbildung 13: Boxplot Diagramm Parameter der Granulozyten-Konzentrate

Der Median der hergestellten GKs hinsichtlich der Anzahl der Granulozyten pro Einheit lag mit $5,5 \times 10^{10}$ Granulozyten/Einheit deutlich über den Mindestvorgaben der Bundesärztekammer ($\geq 1 \times 10^{10}$ Granulozyten/Einheit).¹⁰³

Im folgenden Abschnitt werden die einzelnen GKs in Abhängigkeit der spezifischen Patientendaten genauer betrachtet und der Krankheitsverlauf der Patienten im Rahmen der GK-Transfusion beschrieben.

Patient 1

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

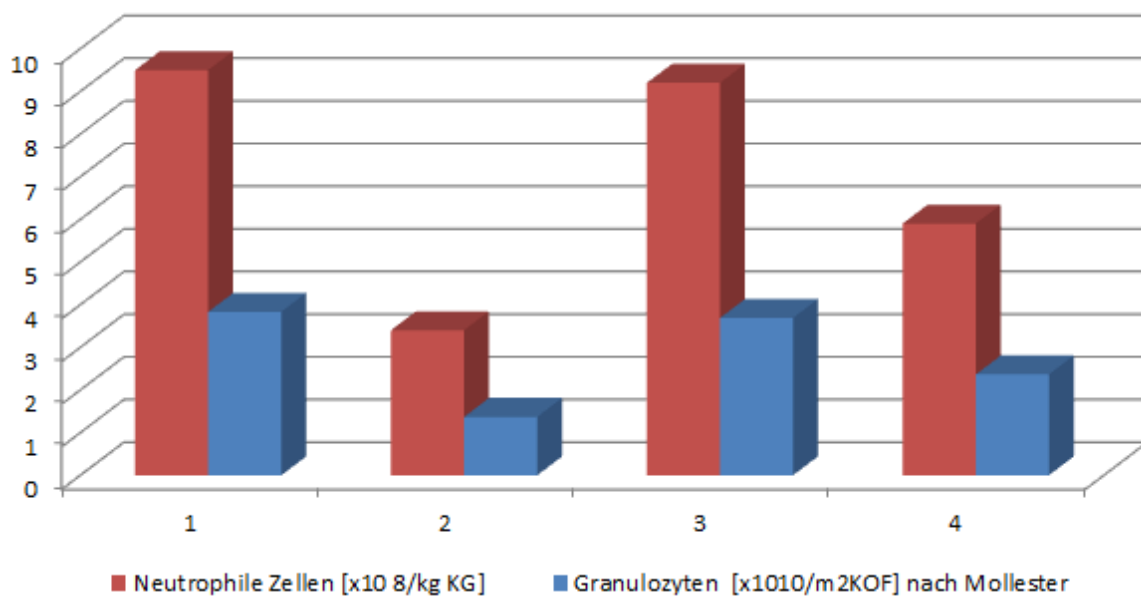


Abbildung 14: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 1

¹⁰³ (Bundesärztekammer, 2010) Seite 43

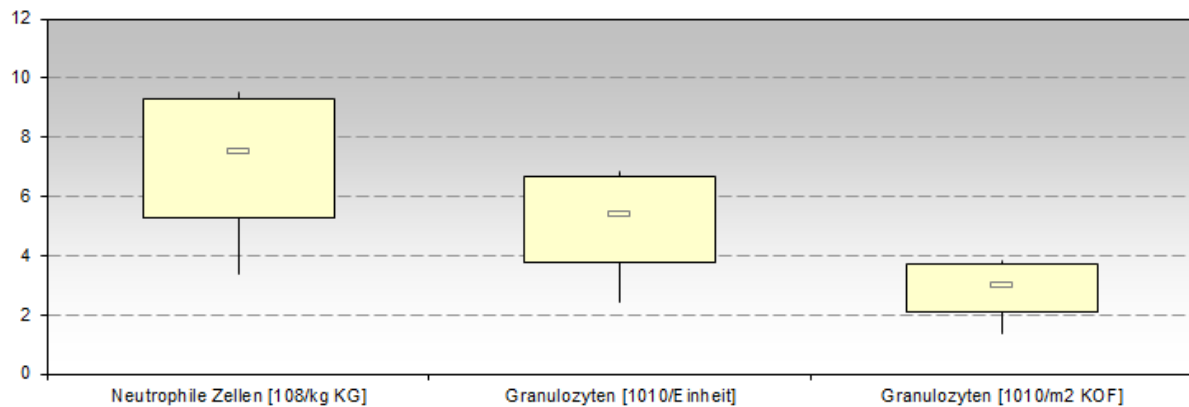


Abbildung 15: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 1

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

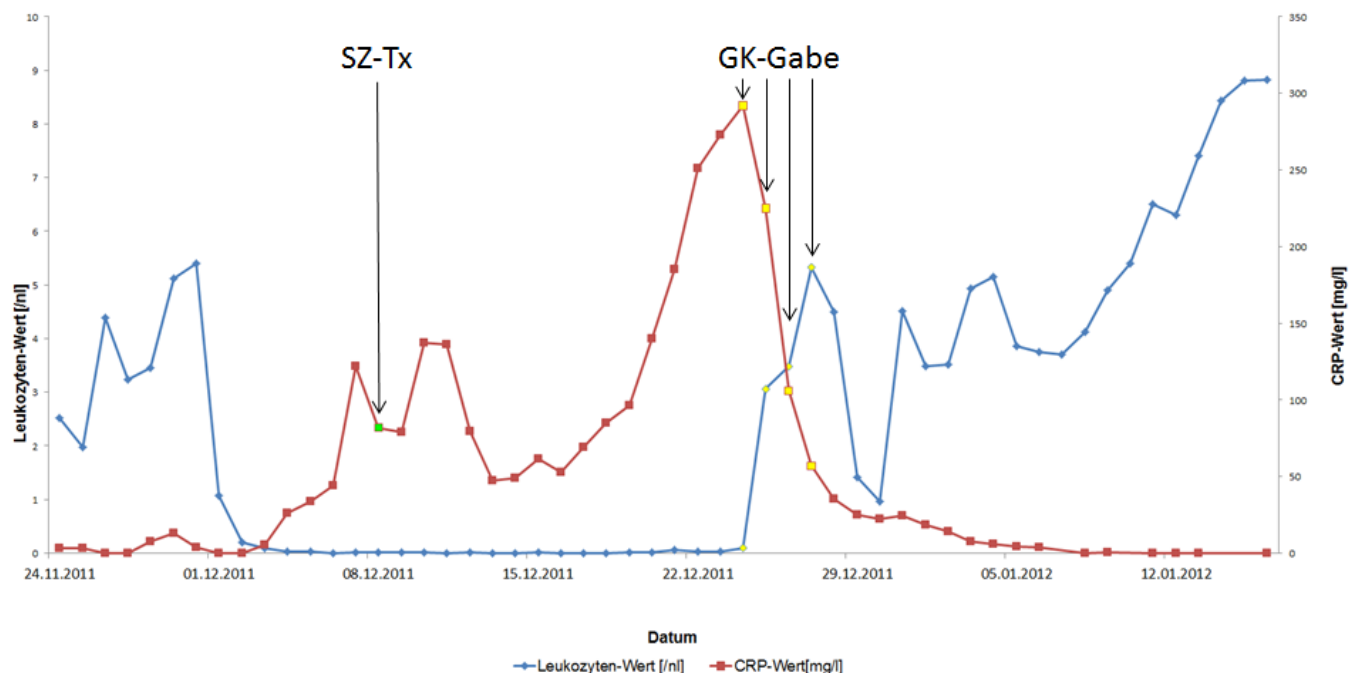


Abbildung 16: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 1

Bei Patient 1 zeigte sich nach der Stammzell-Transplantation (SZ-Tx) am 08.12.2011 eine anhaltende Neutropenie. Während dieser Zeit kam es zu einer Entwicklung einer Pilzpneumonie mit positivem Nachweis des Aspergillus-Antigens im Serum am 15.12.2011 mit einer Stärke von 1,4 Einheiten. Zunächst zeigte sich passend zu den steigenden CRP-Werten auch eine steigender Aspergillus-Antigen Nachweis mit maximalen Werten von 2,1 Einheiten am 19.12.2011. Auch in der Bildgebung mittels HR-CT der Lunge am 19.12.2011 zeigte sich eine neu aufgetretene Konsolidierung verdächtig auf eine Aspergillose. Zusätzlich zur G-CSF Applikation und der Eskalation der antimykotischen Therapie erfolgte die Gabe von 4 GKs an 4 konsekutiven Tagen. Hierauf zeigten sich einerseits innerhalb von zwei Wochen ein Abfall des Aspergillus-Antigens im Serum unterhalb der Nachweisgrenze, und andererseits ein Abfall des CRP auf Normalwerte. Der leukozytäre Take stellte sich G-CSF gestützt am 31.12.2011 ein. Im Nativ HR-CT der Lunge am 17.01.2012 zeigte sich die Konsolidierung zunächst noch progredient, die Milchglastrübung jedoch rückläufig. Da auf Grund einer zunehmenden Lumen-Minderung

des Oberlappen-Bronchus eine tumoröse Raumforderung nicht ausgeschlossen werden konnte erfolgte am 19.01.2012 zusätzlich eine Bronchoskopie, wobei eine feste Formation entfernt werden konnte. In der Histologie waren neben Bindegewebs-Anteile auch Anteile an hyalinem Knorpel mit dichten Besiedelungen durch Pilzhypen sichtbar. Die molekulargenetische Untersuchung ergab den Nachweis eines *Aspergillus fumigatus*. In einer CT-Kontrolle im weiteren Verlauf am 14.05.2012 konnte keine Pneumonie mehr nachgewiesen werden, wobei sich jedoch diskrete Residuen nach stattgehabter atypischer Pneumonie zeigten.

Patient 2

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

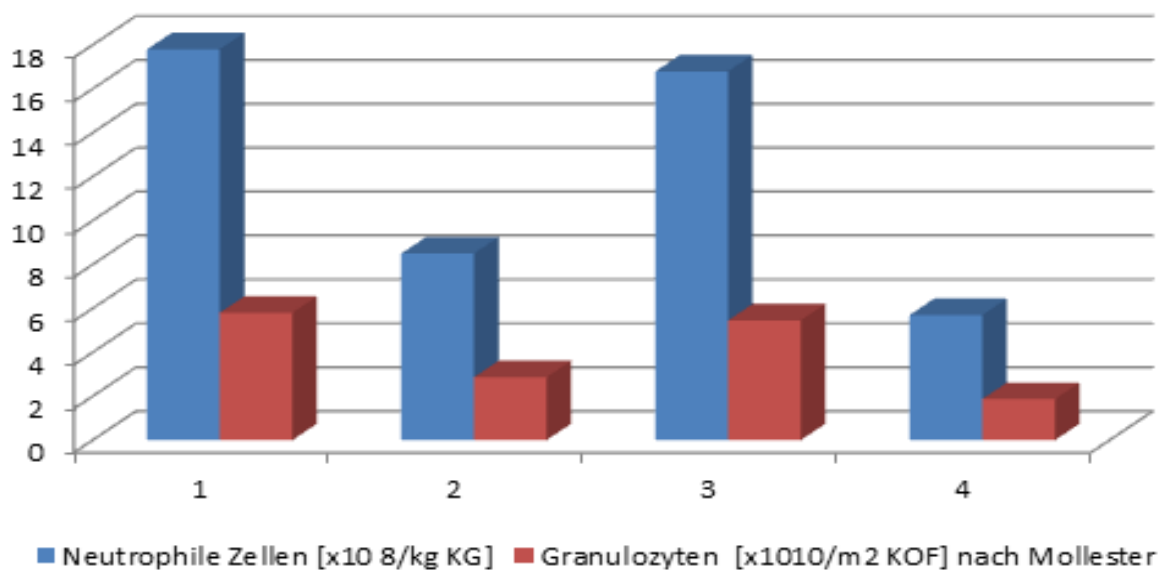


Abbildung 17: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 2

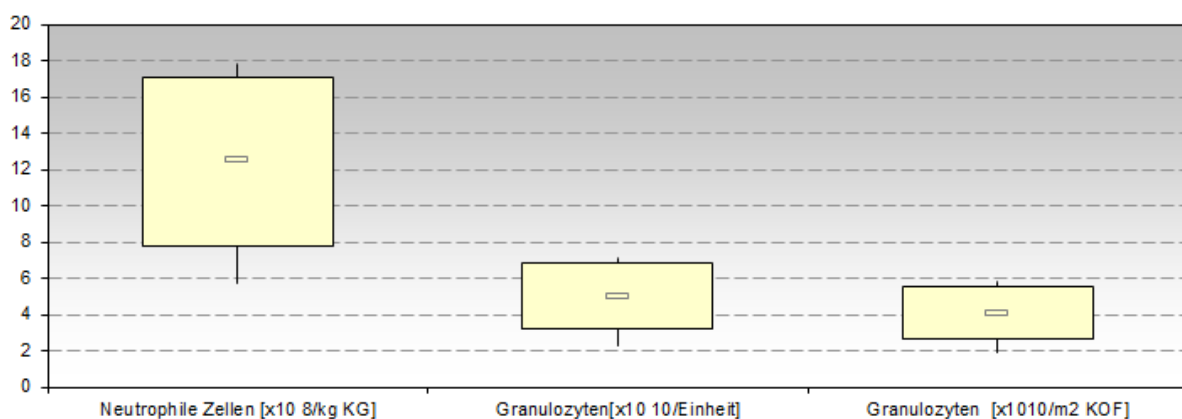


Abbildung 18: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 2

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

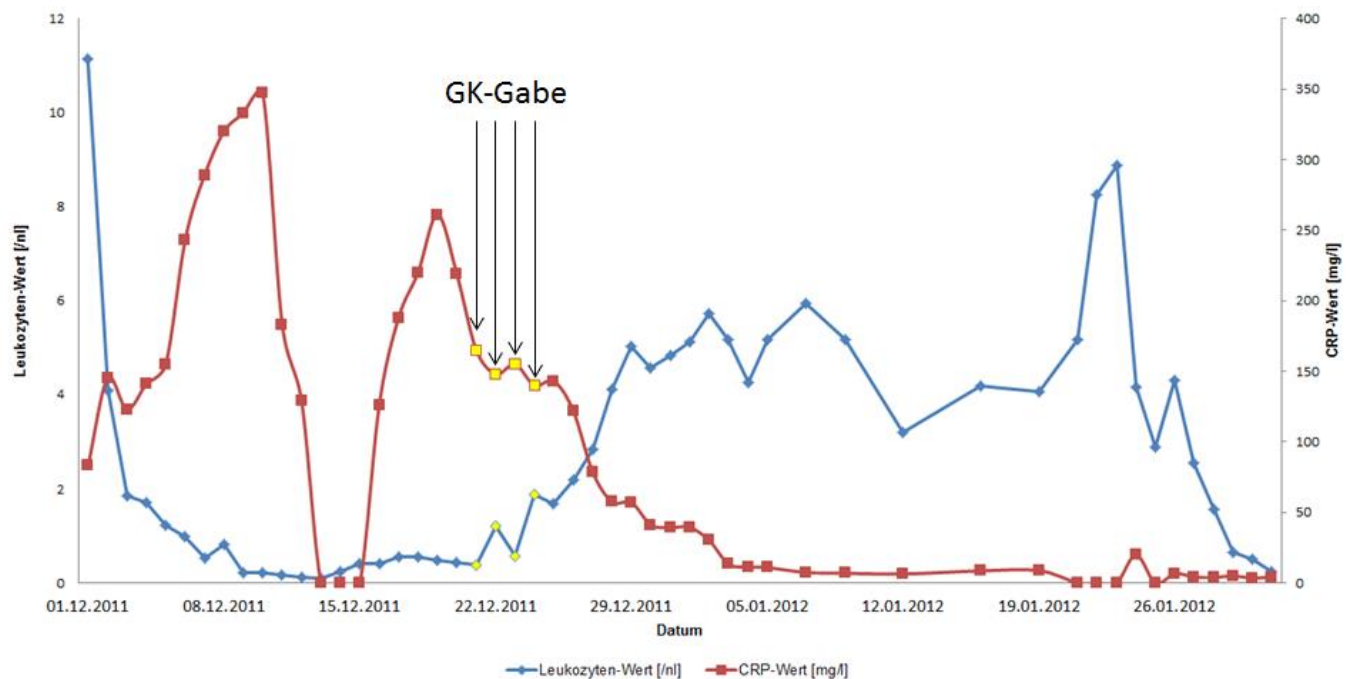


Abbildung 19: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 2

Bei Patient 2 kam es im Rahmen der Rezidiv-Chemotherapie bei AML-Rezidiv zu Fieberschüben, Verschlechterung des Allgemeinzustandes (AZ), sowie Sättigungsabfall mit Sauerstoffbedarf und steigende Entzündungswerte. Ein Erreger konnte zunächst nicht nachgewiesen werden, es zeigten sich aber in der nativen HR-CT der Lunge am 02.12.2011 pneumonische Konsolidierungen, welche in einer Verlaufskontrolle am 06.12.2012 radiologisch rückläufig waren. Die fehlenden Infiltrate sind jedoch a.e. ein Zeichen einer mangelnden Ausbildung einer Inflammation auf Grund der persistierenden Neutropenie. Zusätzlich zu einer maximalen antimikrobiellen Therapie und fibersenkender Medikation erfolgte die Gabe von Mylotarg, ein antimyeloischer Antikörper. Nach einer kurzzeitigen Besserung der Entzündungsparameter kam es erneut zu einer Verschlechterung, sowie dem Nachweis erneuter fokaler Konsolidierungen im CT am 19.12.2011 mit V.a. eine infektiöse Genese mykotischen Ursprungs. Wegen der persistierenden Neutropenie, der ausgeprägten klinischen Symptomatik und einer Pilzpneumonie in der Patientenvorgeschichte erfolgte die Gabe von 4 GKs an 4 konsekutiven Tagen in Kombination mit einer G-CSF Applikation. Im Zuge des Anstiegs der Leukozyten stellte sich klinisch eine Entfieberung ein, und die Entzündungswerte konnten auf Werte innerhalb des Normbereichs gesenkt werden. In der Kontroll-CT am 02.01.2012 zeigten sich keine Pneumonie-suspekten Konsolidierungen mehr. Im Anschluss konnte die geplante Konditionierung mit folgender haplo-identer SZ-Tx der Mutter am 02.02.2012 durchgeführt werden. Der leukozytäre Take stellte sich am 12.02.2012 (Tag +10) und der thrombozytäre Take am 13.02.2012 (Tag +11) ein.

Patient 3

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

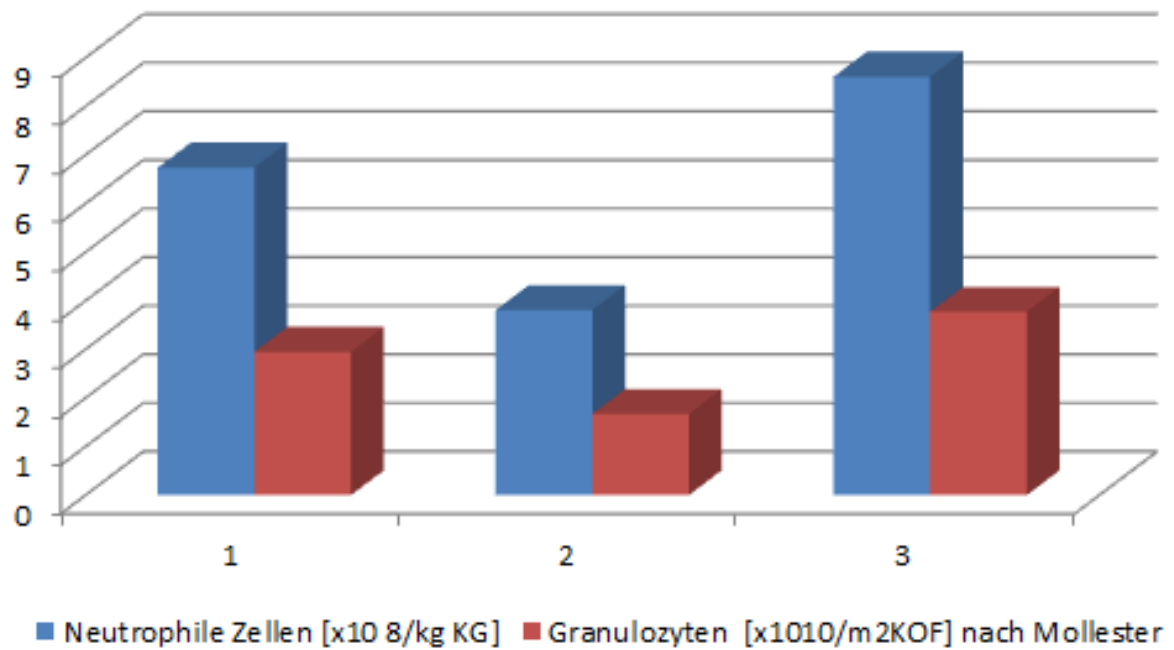


Abbildung 20: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 3

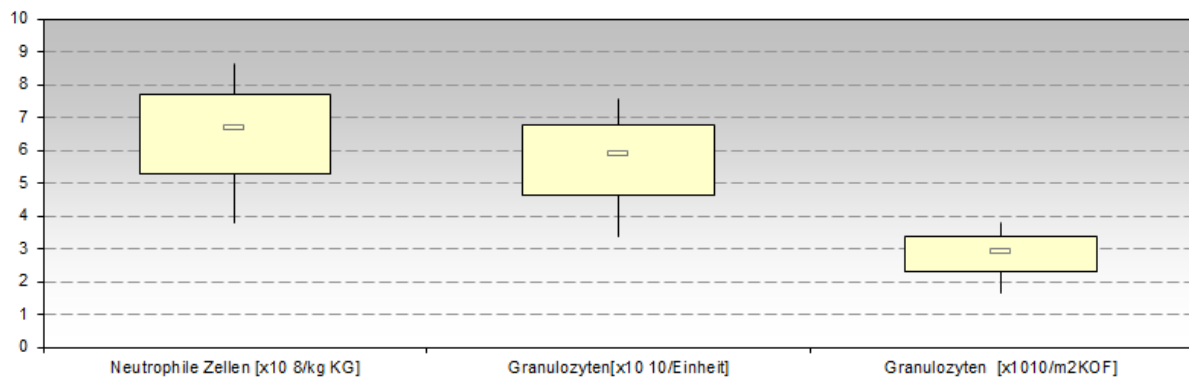


Abbildung 21: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 3

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

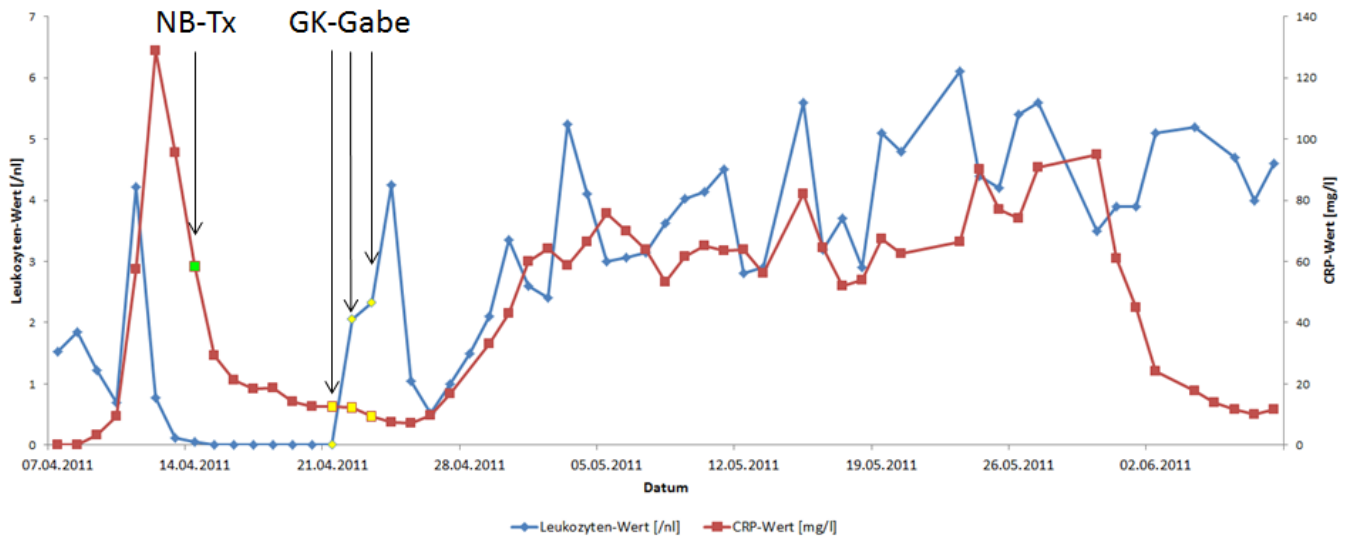


Abbildung 22: Linien-Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 3

Bei Patient 3 waren in den Tagen vor der Transplantation von 2 Nabelschnurblut-Einheiten (CBU) am 14.04.2011 febrile Temperaturen von bis zu 40,7°C zu verzeichnen. In den abgenommenen Blutkulturen und dem Urinkult war jedoch keine Keim-Isolierung möglich, weshalb eine empirische Antibiose eingeleitet wurde. Diese wurde bei Nachweis des Clostridium difficile Antigens und des Clostridium difficile Toxins A/B in der Stuhlkultur entsprechend um Metronidazol-Gabe erweitert. Vier Tage nach der Transplantation zeigte sich in der neutropenen Phase eine progrediente Schwellung und Rötung des linken Auges. Die Körpertemperatur war im Normbereich und die CRP-Werte leicht erhöht bei ca. 20 mg/l. In der Bildgebung mittels MRT unter Verwendung von Kontrastmittel am 20.04.2011 verdeutlichte sich eine phlegmonöse Oberlidentzündung mit einer Ausbreitung nach intraorbital, am ehesten mykotischer Genese. Auf Grund des hohen Risikopotenzials der intrakranialen Ausbreitung bei länger andauernder Neutropenie wurde zusätzlich zur Eskalation der medikamentösen Therapie 3 GKs an 3 konsekutiven Tagen transfundiert. Überlappend wurde eine Applikation mit G-CSF begonnen, welche kurz nach Einstellung des leukozytären Takes am 27.04.2011 (Tag +13) abgesetzt wurde. Der thrombozytäre Take folgte am 09.05.2011 (Tag +25). Die fast vollständige Rückbildung der phlegmonösen Oberlidentzündung sowie des intraorbitalen Anteils konnte in der MRT-Kontrolle des Schädels am 09.05.2011 bestätigt werden.

Patient 4

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

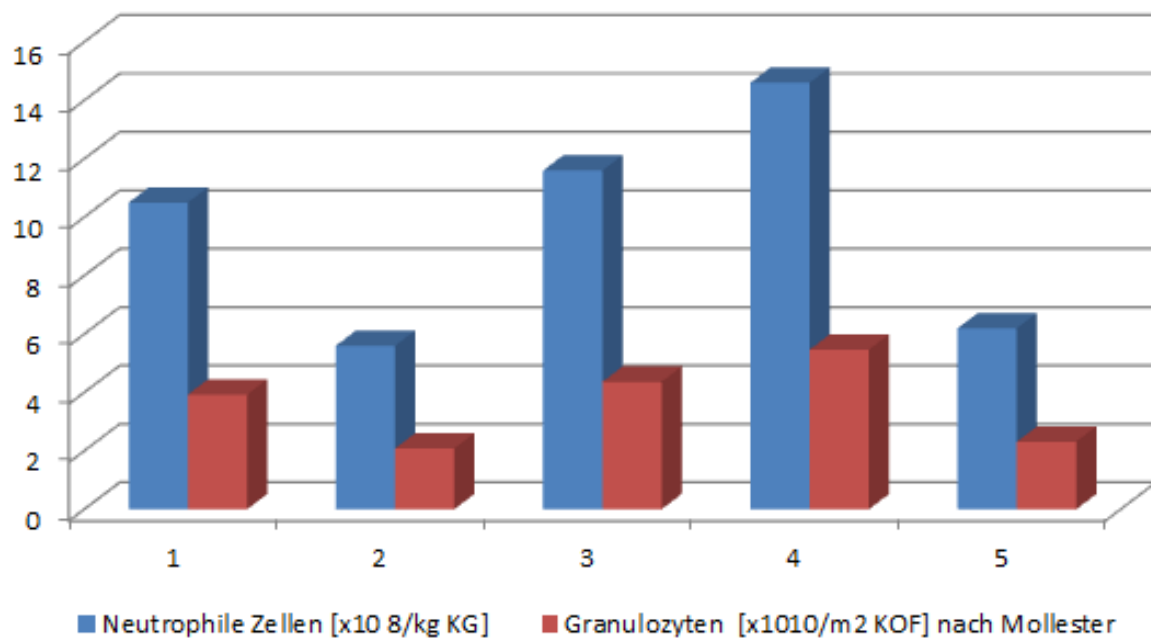


Abbildung 23: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 4

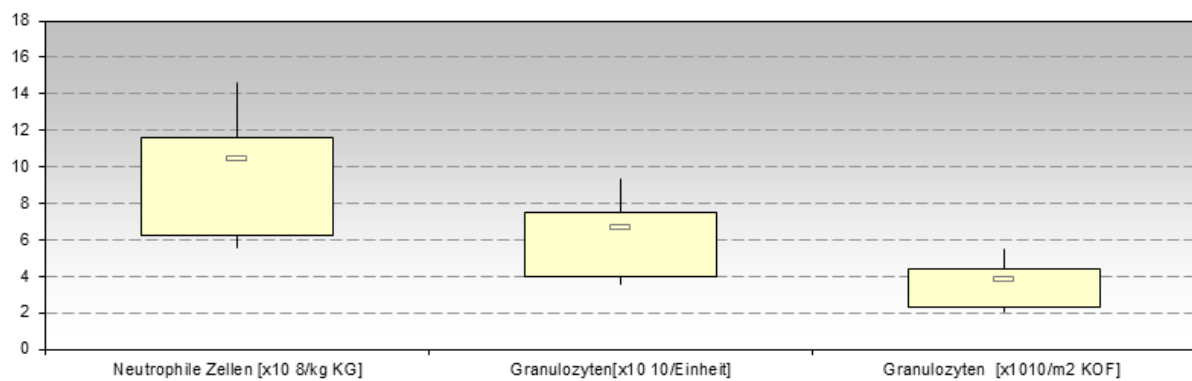


Abbildung 24: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 4

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

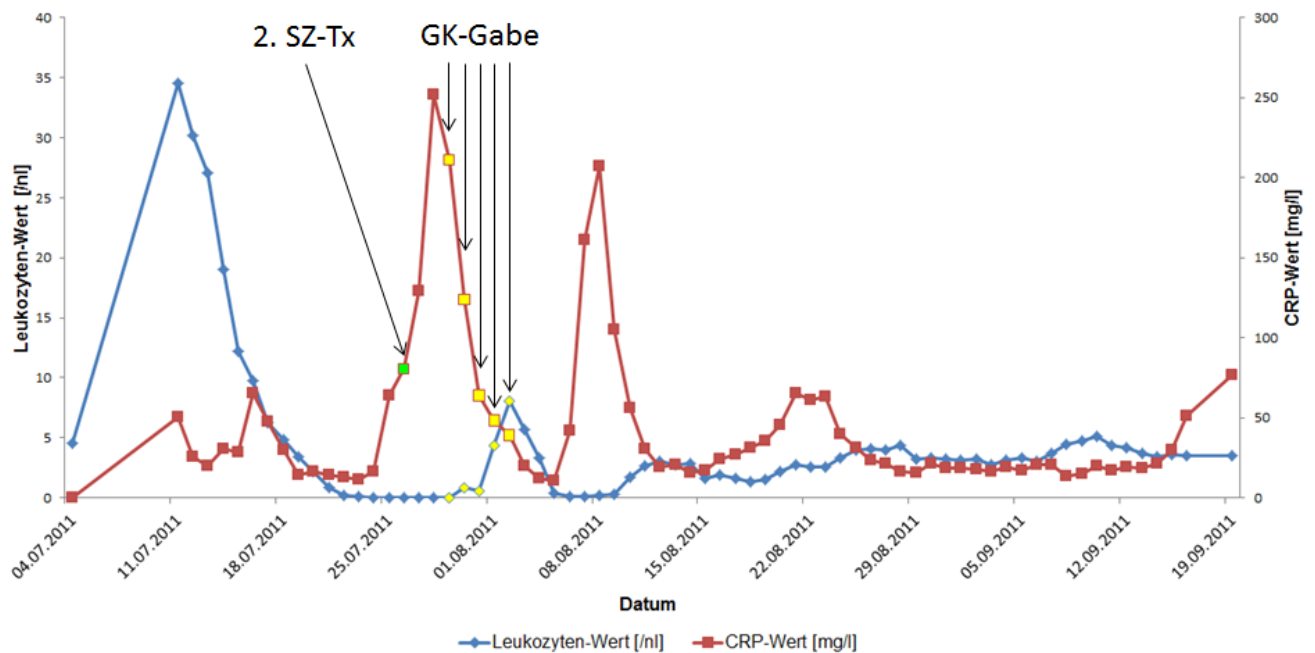


Abbildung 25: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 4

Bei Patient 4 wurde bereits in der Neutropenie-Phase im Rahmen der Vorbereitung der ersten SZ-Tx eine Pilzpneumonie in der CT-Aufnahme vom 02.11.2010 diagnostiziert. Der Aspergillus-Antigen Nachweis im Serum war negativ. Eine Umstellung der Therapie war von Erfolg, so dass es zu einem Rückgang der febrilen Temperaturen kam und sich auch die Infiltrate im CT am 16.11.2010 rückläufig zeigten. Nach der ersten Stammzell-Transplantation, welche am 20.04.2011 erfolgte, konnte das Aspergillus-Antigen mit 1,7 Einheiten als positiv nachgewiesen werden und im CT am 07.05.2011 präsentierte sich zusätzlich zu den vorbekannten Rundherden das Bild einer angioinvasiven Aspergillose. In der Neutropenie-Phase der zweiten SZ-Tx, welche am 26.07.2011 erfolgte, kam es einerseits zur Entwicklung einer Sepsis bei neutropener Kolitis, und andererseits zu einer Progredienz der vorbekannten Pneumonie, was sich in der HR-CT Verlaufskontrolle am 01.08.2011 abzeichnete. Das Aspergillus-Antigen konnte jedoch nur mit 0,5 Einheiten im Serum nachgewiesen werden. Da sich aber trotz maximaler medikamentöser Therapie keine Besserung der klinischen Symptomatik einstellte, erfolgte die Gabe von 5 GKs an 5 konsekutiven Tagen. Dies führte initial zu einem guten Absenken des CRP-Wertes, sowie zu einem Anstieg der Leukozyten. Passend hierzu konnte in der HR-CT der Lunge am 09.08.2011 eine Regredienz der entzündlichen Konsolidierungen verzeichnet werden.

Bedauerlicherweise konnten am 21.08.2011 (Tag +26) im peripheren Blut erneut Blasten festgestellt werden, woraufhin es zur Einleitung einer Palliativ-Therapie kam.

Patient 5

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

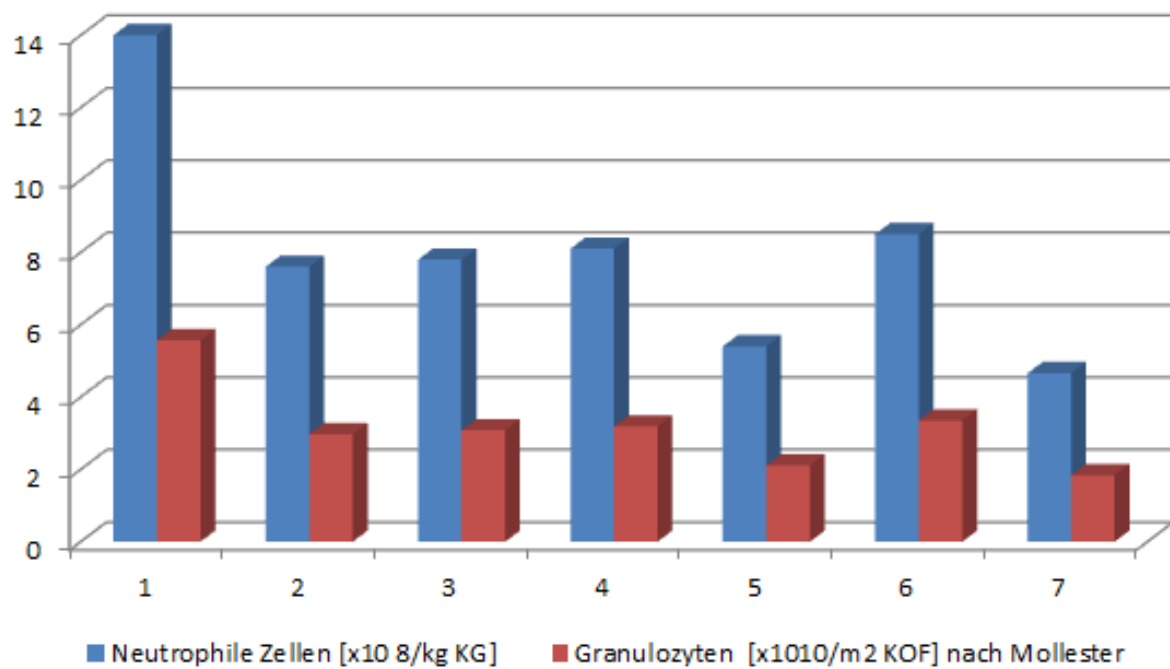


Abbildung 26: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 5

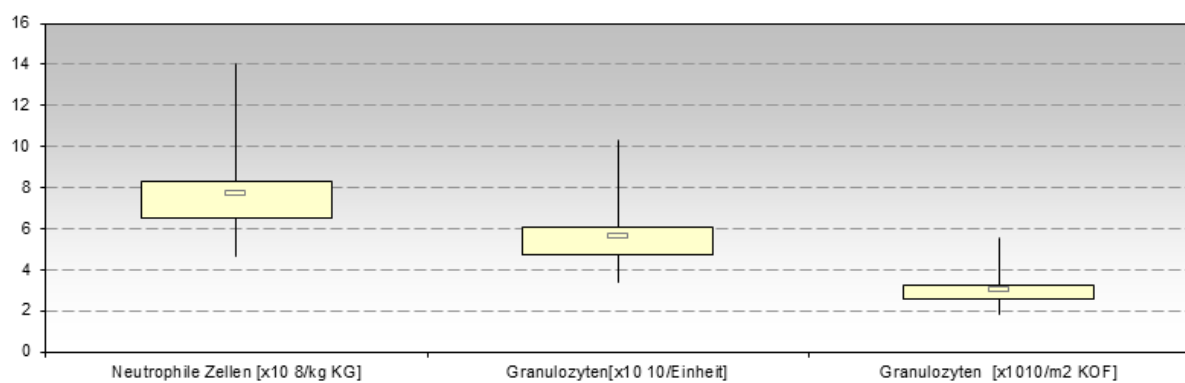


Abbildung 27: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 5

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

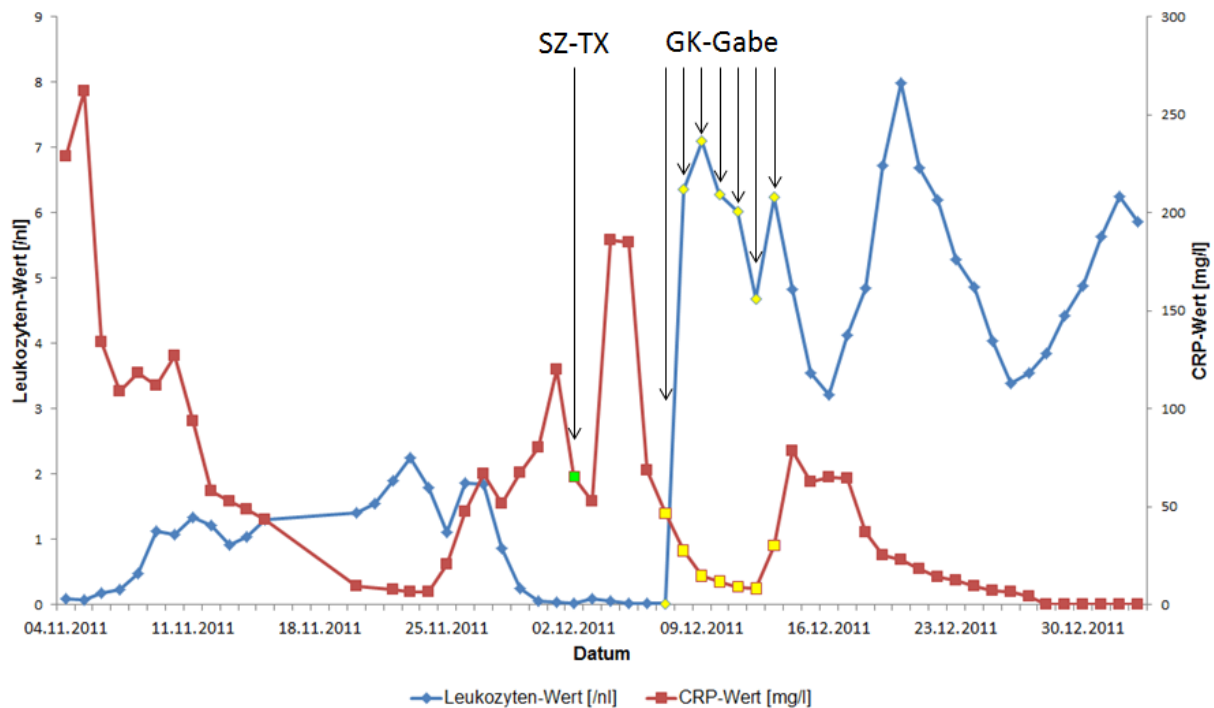


Abbildung 28: Linien-Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 5

Bei Patient 5 zeigte sich bei produktivem Husten und febrilen Temperaturen von bis zu 40,8°C in der HR-CT der Lunge am 31.10.2011 eine beidseits basal betonte Pneumonie mit atypischer Komponente, prinzipiell passend zu einer atemwegs-invasiven Aspergillose. Der Aspergillus-Antigen Nachweis im Serum war sowohl am 07.11.2011 als auch am 09.11.2011 mit 0,5 Einheiten schwach positiv. Messungen im weiteren Verlauf waren jeweils negativ. In einer CT-Thorax Verlaufskontrolle am 07.11.2011 zeigte sich ein deutlicher Progress der bekannten Konsolidierungen. Auf Grund des vorliegenden Befunds wurde die Medikation entsprechend umgestellt und die Transplantation verschoben. Am 23.11.2011 erfolgte eine erneute HR-CT Kontrolle mit deutlicher Befundbesserung, weshalb die allogene SZ-Tx am 02.12.2011 durchgeführt wurde. Auf Grund einer respiratorischen Insuffizienz nach der SZ-Tx erfolgte eine kurzzeitige Verlegung auf die Intensivstation für 3 Tage. Im CT am 02.12.2011 zeigte sich eine erneute Progredienz der Pilzpneumonie mit steigenden CRP-Werten. Auf Grund der ausgeprägten Symptomatik der atemwegs-invasiven Aspergillose und der anhaltenden Neutropenie erfolgte die Gabe von 7 GKs an 7 konsekutiven Tagen. Dies führte zu einem deutlichen Anstieg der Leukozyten, bis sich der leukozytäre Take am 15.12.2011 (Tag +13) einstellte, gefolgt vom thrombozytären Take am 30.12.2011 (Tag +28). Die CRP-Werte wurden initial gesenkt und konnten nach einer kurzzeitigen Erhöhung wieder in den Normbereich gebracht werden. Am 20.12.2011 zeigte sich eine akute Darm-GvHD 1°, weshalb es zu einer Anpassung der immunsuppressiven Therapie kam. In der Knochenmarkspunktion am 28.12.2011 (Tag +26) ergab sich schließlich kein Hinweis mehr auf die bekannte AML.

Patient 6

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

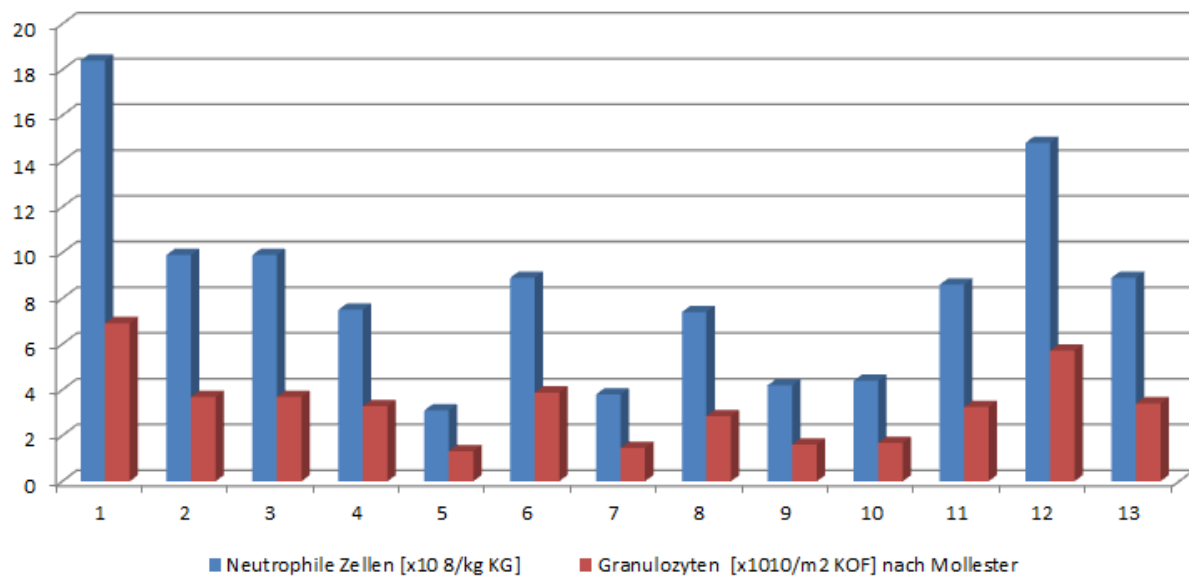


Abbildung 29: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 6

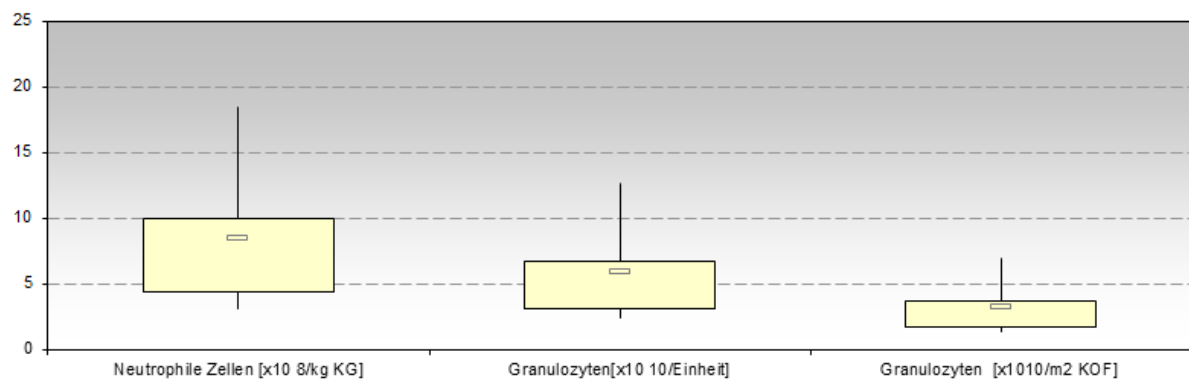


Abbildung 30: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 6

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

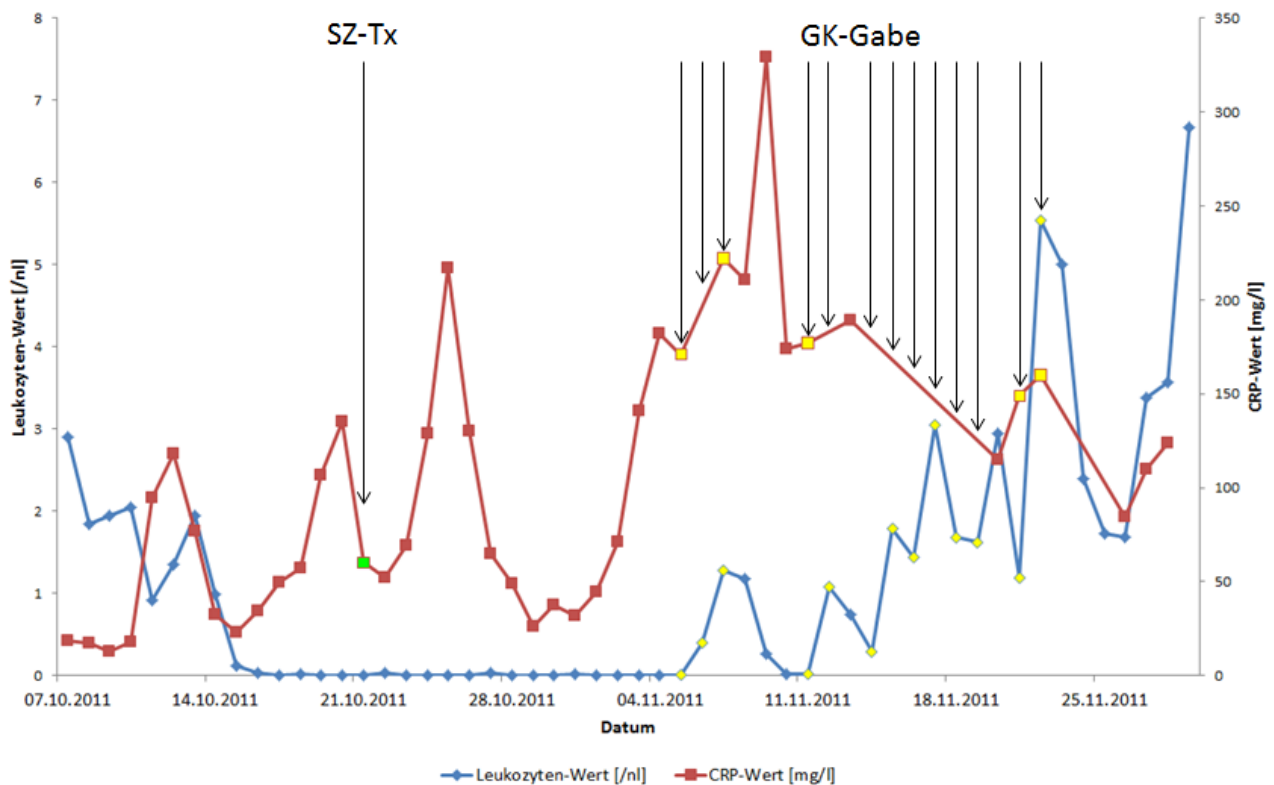


Abbildung 31: Linien-Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 6

Bei Patient 6 zeigten sich bereits während der Panzytopenie im Rahmen der zweiten Induktions-Therapie febrile Temperaturen von bis zu 39°C mit Nachweis einer Pilzpneumonie in der HR-CT am 17.08.2011. Auf Grund dieses Vorbefundes und den bestehenden Restherden in der HR-CT am 07.10.2011 erfolgte die Umstellung der antimykotischen Therapie auf Caspofungin während der Konditionierung. Am 21.10.2011 wurde die allogene SZ-Tx durchgeführt. Bei steigenden Entzündungswerten wurde eine CT-Verlaufskontrolle am 25.10.2011 angefertigt ohne Zeichen einer relevanten Befundbesserung. Der Aspergillus-Antigen Nachweis am 27.10.2011 war negativ. Bei erneutem Anstieg der Entzündungswerte zeigte sich auch der Aspergillus-Antigen Nachweis positiv mit 6,2 Einheiten am 31.10.2011, und im weiteren sogar steigend auf 8,9 Einheiten am 03.11.2011. Die Umstellung der medikamentösen Therapie gestaltete sich nicht ohne Komplikationen auf Grund einer sich einstellenden bzw. anhaltenden Vigilanzminderung und einer kardialen Dekompensation mit tachyarrhythmischen Phasen. Wegen fehlender Schutzreflexe kam es zur Verlegung auf die Intensivstation und folgender Intubation. Hier erfolgte am 05.11.2011 zusätzlich zum CT-Thorax, wobei sich neu aufgetretene Konsolidierungen der Pilzpneumonie zeigten, auch ein CCT mit V.a. einen Posterior-Teilinfarkt. Auf Grund der Progredienz der klinischen Symptomatik unter der persistierenden Neutropenie erfolgte die Gabe von 13 GKs verteilt über 18 Tagen. Als weitere Komplikationen kam es zum akuten Nierenversagen mit Indikation zur Dialyse sowie zu einem intermittierenden Vorhofflimmern mit Indikation zur Kardioversion. In einer Knochenmarkspunktion am 11.11.2011 wurde bei einer Aplasie ohne Hinweis auf Blasten-Vermehrung zunächst der V.a. eine Transplantat-Abstoßung („Graft-Failure“) geäußert. Nach einer Knochenmarkstimulation mittels G-CSF konnte jedoch am 24.11.2011 ein Leukozyten-Anstieg verzeichnet und der Chimärismus im peripheren Blut bestätigt werden. Somit konnte die Diagnose auf verzögertes Engraftment abgewandelt werden. Im weiteren Verlauf kam es zu einer weiteren respiratorischen Verschlechterung mit Beatmungsintensivierung und Katecholamin-Pflichtigkeit. In der HR-CT am 25.11.2011 zeigte sich weiterhin eine Progredienz der bekannten Pilzpneumonie, einhergehend mit einem

steigenden Aspergillus-Antigen Nachweis im Serum. Auch in der BAL, gewonnen während der Bronchoskopie am 28.11.2011 war das Aspergillus-Antigen positiv. Des Weiteren präsentierte sich in der Bronchoskopie das Bild eines Capillary-Leak-Syndroms, welches mit Steroiden entsprechend anbehandelt wurde. Ein stetiger Anstieg der Kalium-Werte führte zur Reanimation und letztendlich zum Exitus letalis am 29.11.2011.

Patient 7

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

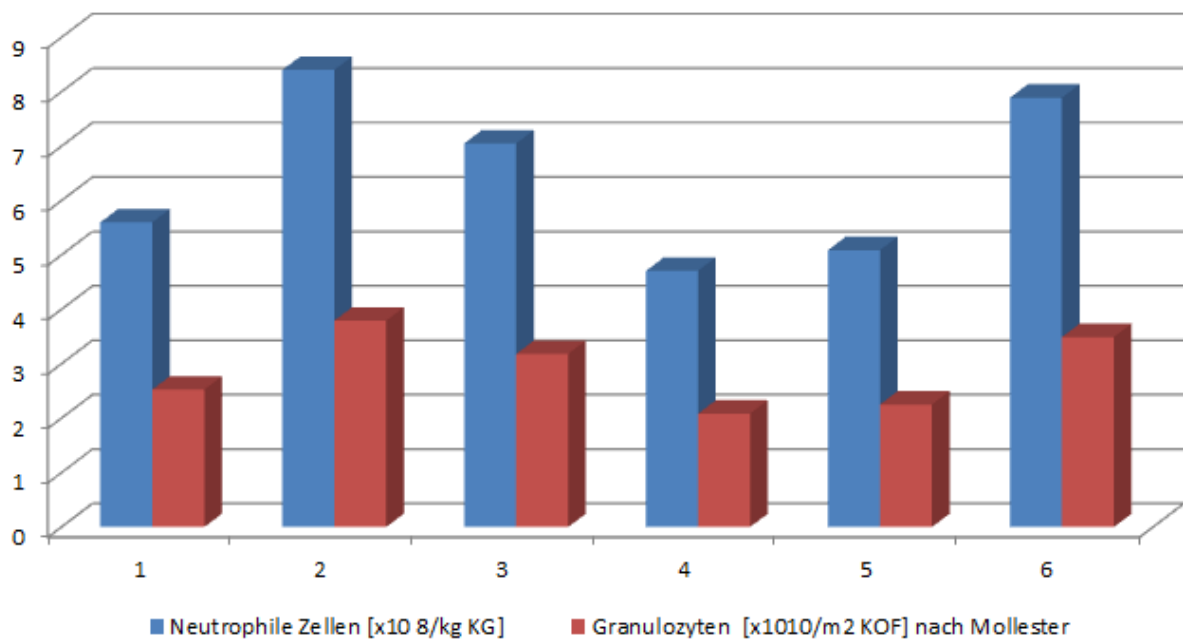


Abbildung 32: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 7

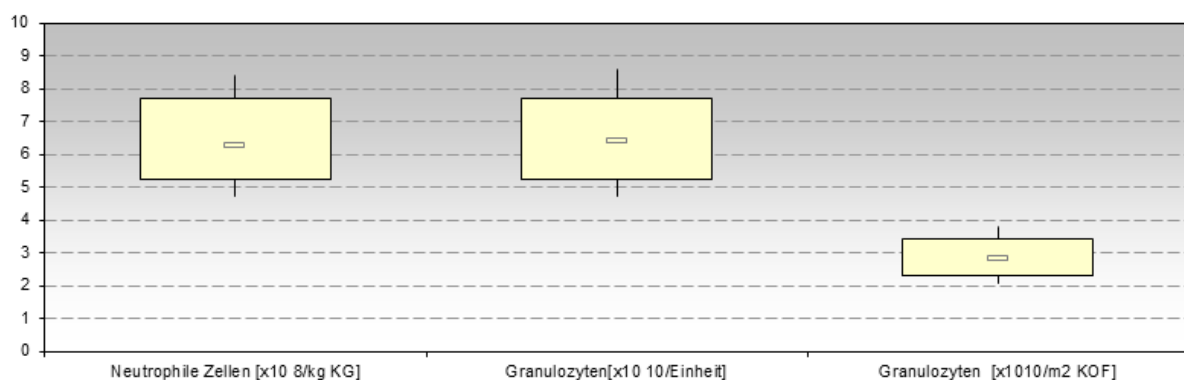


Abbildung 33: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 7

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

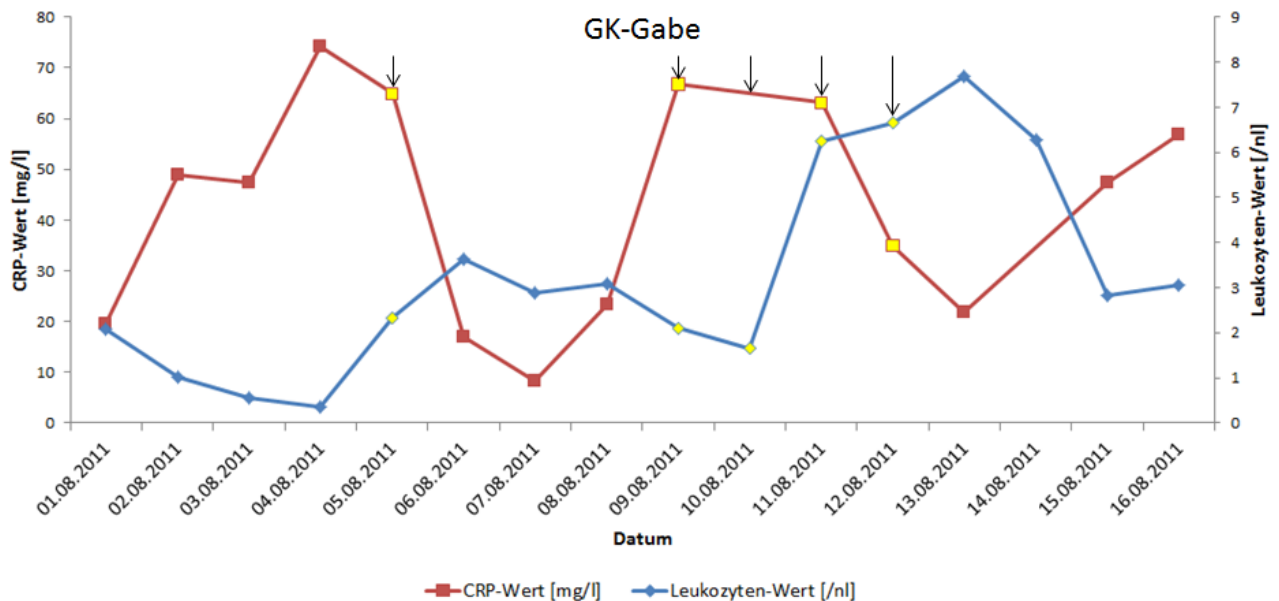


Abbildung 34: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 7

Bei Patient 7 wurde am 16.11.2010 eine allogene SZ-Tx durchgeführt, wobei es im Rahmen der Neutropenie zu febrilen Temperaturen kam mit V.a. eine Pilzpneumonie in der HR-CT der Lunge am 01.12.2010. Der Aspergillus-Antigen Nachweis zeigte sich am 29.11.2010 positiv mit 0,7 Einheiten, und im Verlauf stetig steigend bis zu Werten von 2,4 Einheiten am 13.12.2010. Nach entsprechender Umstellung der Medikation und dem Einstellen des G-CSF gestützten leukozytären Take am 07.12.2010 (Tag +21) konnte klinisch eine deutliche Befundbesserung erreicht werden.

Im August 2011 wurde der Patient auf Grund eines Frührezidivs einer sekundären AML zu einer geplanten zweiten Transplantation mit Knochenmark stationär aufgenommen. In den folgenden Tagen nach Aufnahme zeigten sich ansteigende Entzündungswerte sowie eine Pilzpneumonie in der HR-CT der Lunge am 03.08.2011. Der Aspergillus-Antigen Nachweis am 04.08.2011 war negativ. Die Re-Induktions-Therapie wurde bei der raschen klinischen Verschlechterung zur Sepsis hin abgebrochen und die medikamentöse antimikrobielle Therapie entsprechend eskaliert. Auf Grund der ausgeprägten Symptomatik erfolgte die Gabe von 6 GKs innerhalb von 8 Tagen, wobei an einem Tag zwei Produkte transfundiert wurden. Initial zeigte der Patient ein gutes Ansprechen auf die erste Gabe von Spender-Granulozyten. In den folgenden Tagen kam es jedoch erneut zu einer Verschlechterung der respiratorischen Situation mit Verlegung auf die Intensivstation am 09.08.2011, wo eine lückenlose Versorgung des Patienten mit GKs erfolgte. Hierdurch konnte der Patient lediglich respiratorisch stabilisiert werden, aber darüber hinaus war keine Befundbesserung zu verzeichnen. Trotz maximaler Therapie führt die Schwere des Befundes zum Exitus letalis am 17.08.2011.

Patient 8

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

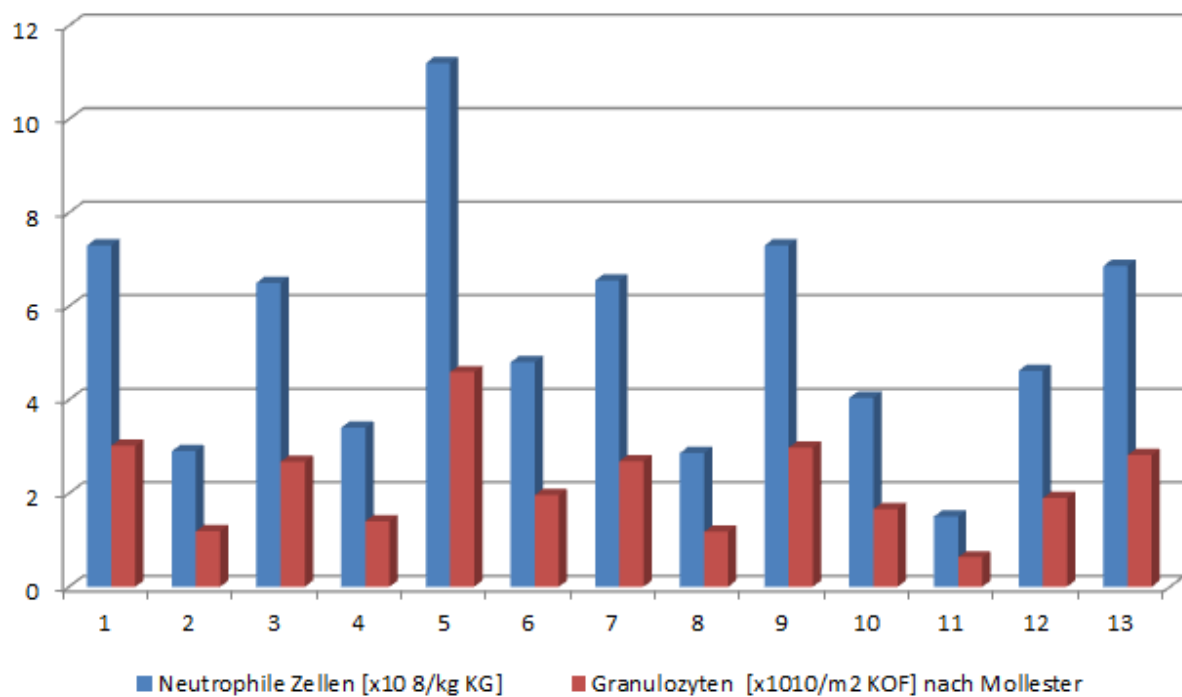


Abbildung 35: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 8

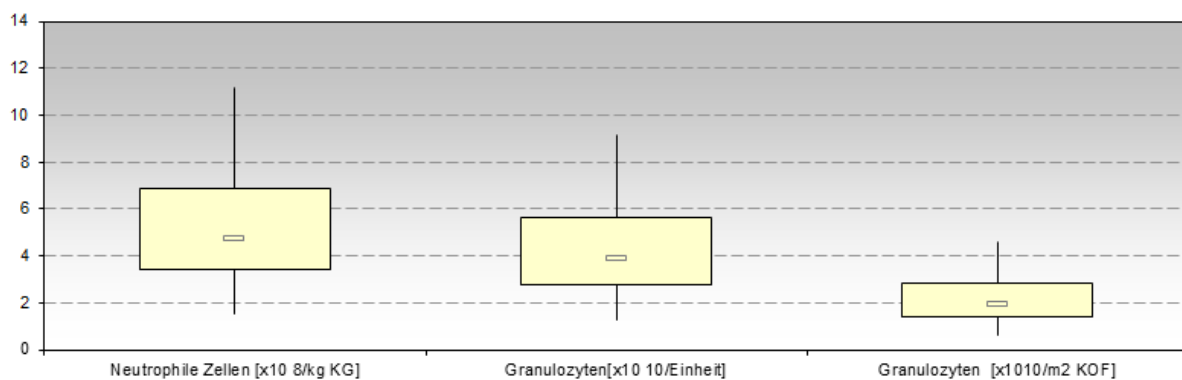


Abbildung 36: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 8

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

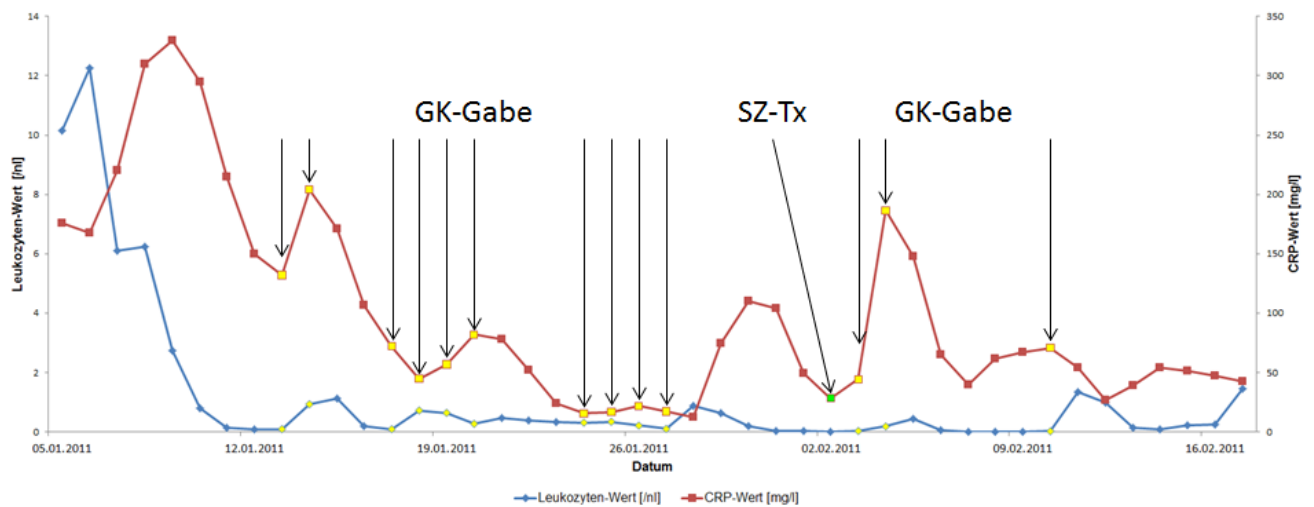


Abbildung 37: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 8

Bei Patient 8 zeigte sich im Rahmen der Re-Induktionstherapie eine deutlich progrediente Schwellung des linken Unterschenkels. In der bildmorphologischen Untersuchung mittels CT hat sich der Verdacht auf eine Myositis ergeben. Die Re-Induktion wurde somit am 07.01.2011 abgebrochen und die anti-infektiöse Therapie entsprechend umgestellt. In der HR-CT am 17.01.2011 zeichnete sich zusätzlich eine Pilzpneumonie ab. Der Aspergillus-Antigen Nachweis war jedoch negativ. Auf Grund des ausgeprägten Befundes im Bereich des Unterschenkels, sowie der im Verlauf neu aufgetretenen Pilzpneumonie wurden insgesamt 13 GKs transfundiert mit dem Ziel den sich präsentierenden Befund zu bessern bzw. eine Exazerbation während der Neutropenie zu verhindern. Zehn der Produkte wurden über 15 Tage verteilt vor der SZ-Tx verabreicht und 3 Produkte innerhalb von 8 Tagen im Anschluss an die SZ-Tx, welche am 02.02.2011 erfolgte. Durch die Kombination der medikamentösen Therapie und der GK-Gabe konnte eine deutliche Befundbesserung erreicht werden und die neutropene Phase ohne weitere Komplikationen überbrückt werden bis sich der leukozytäre Take am 20.02.2011 (Tag +18) einstellte, dicht gefolgt vom thrombozytären Take am 21.02.2011 (Tag +19). In der Knochenmarkspunktion am 03.03.2011 (Tag +29) konnte kein Hinweis mehr auf die vorbekannte AML gefunden werden.

Patient 9

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

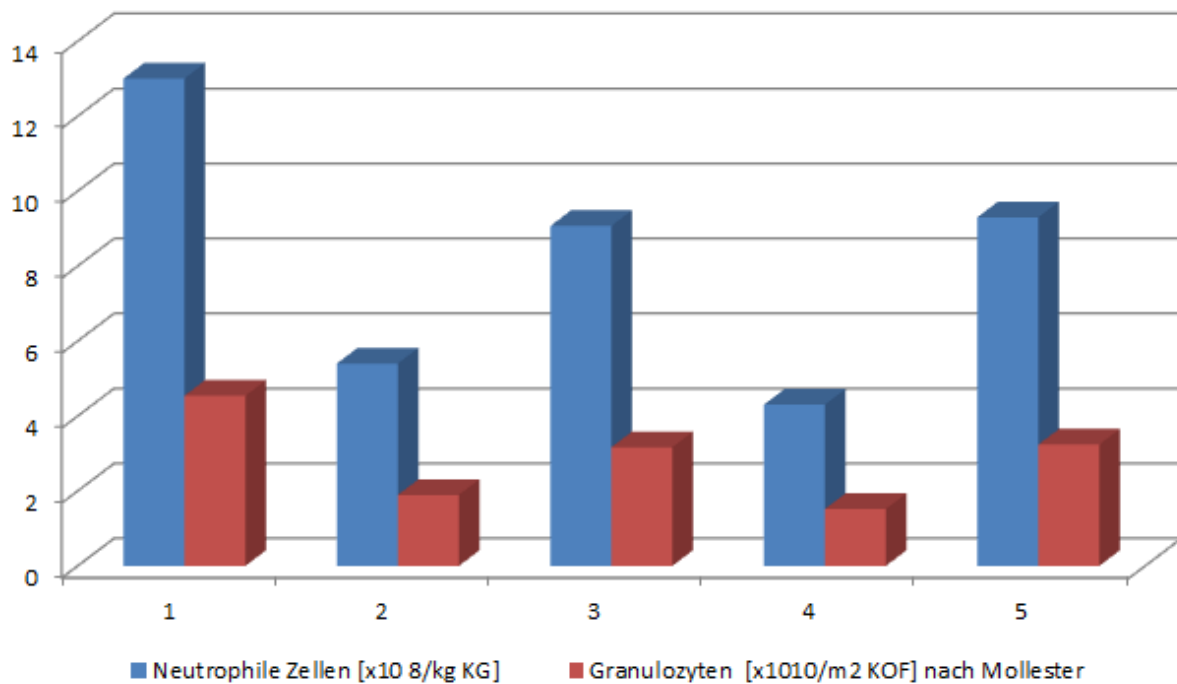


Abbildung 38: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 9

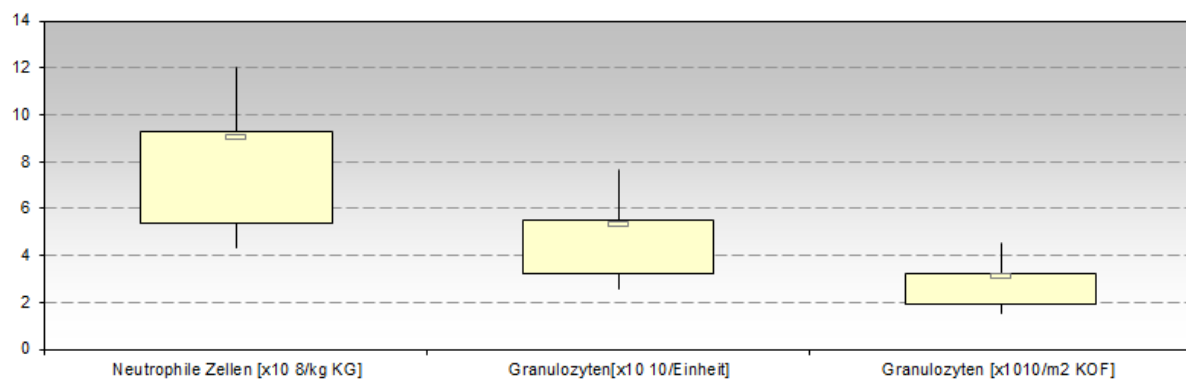


Abbildung 39: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 9

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

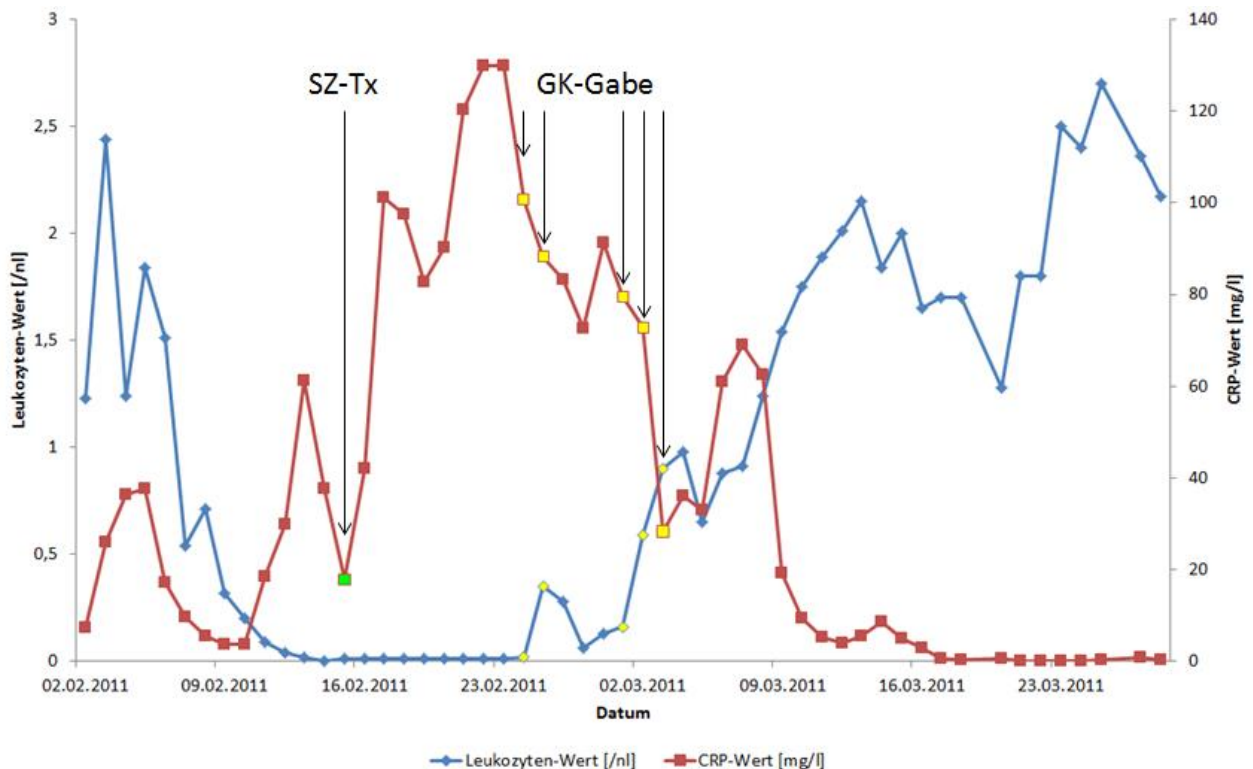


Abbildung 40: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 9

Bei Patient 9 zeigte sich bereits im Vorfeld der allogenen SZ-Tx eine Pneumonie auf Basis einer Infektion mit *Klebsiella pneumoniae*. Der Erregernachweis konnte mit Hilfe einer positiven Blutkultur (BK) erbracht werden. Zusätzlich konnte das *Clostridium difficile* Antigen in der Stuhlkultur und im weiteren Verlauf auch ein VRE in der BK diagnostiziert werden, so dass eine entsprechende Umstellung der Therapie gemäß Antibiotogramm erfolgte. Im Rahmen der SZ-Tx, welche am 15.02.2011 erfolgte, kam es während der anhaltenden Neutropenie einerseits zu einem positiven Nachweis des *Aspergillus*-Antigens im Serum am 21.02.2011 mit 5,2 Einheiten, und andererseits zu einer progredienten Schwellung im Bereich der rechten Orbita mit Nachweis von *Fusarium proliferatum* am 25.02.2011 aus dem Nasennebenhöhlen(NNH)-Sekret, welches im Zuge einer Fensterung gewonnen wurde. Hierauf wurde die Diagnose einer invasiven Mykose der rechten Orbita und der NNH gestellt. Des Weiteren zeigte sich in der HR-CT der Lunge am 25.02.2011 eine Pneumonie mit möglicher mykotischer Genese. Auf Grund der Progredienz der Schwellung und der steigenden Entzündungswerte erfolgte die Gabe von 5 GKs mit einer kurzzeitigen Unterbrechung von 3 Tagen zwischen dem 2. Und dem 3. GK. Anschließend zeichnete sich eine Absenkung des CRP-Werts ab, sowie ein Anstieg der Leukozyten, welcher durch den leukozytären Take am 08.03.2011 (Tag +21) nachhaltig unterstützt wurde. Am 10.03.2011 (Tag +23) folgte der thrombozytäre Take. Auch eine schrittweise Absenkung des *Aspergillus*-Antigens konnte erreicht werden, mit zuletzt 0,6 Einheiten am 03.03.2011, bevor ein negativer Nachweis erfolgte. Eine beginnende akute GvHD der Haut 1° wurde am 07.03.2011 sofort mit Steroiden anbehandelt. In der KMP am 16.03.2011 (Tag +29) konnte kein Hinweis auf blastäre Vorstufen, sowie ein Rückgang der Markfibrose auf Grad II erkannt werden. Die Mutation der JAK2-Kinase konnte ebenfalls nicht mehr nachgewiesen werden.

Patient 10

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

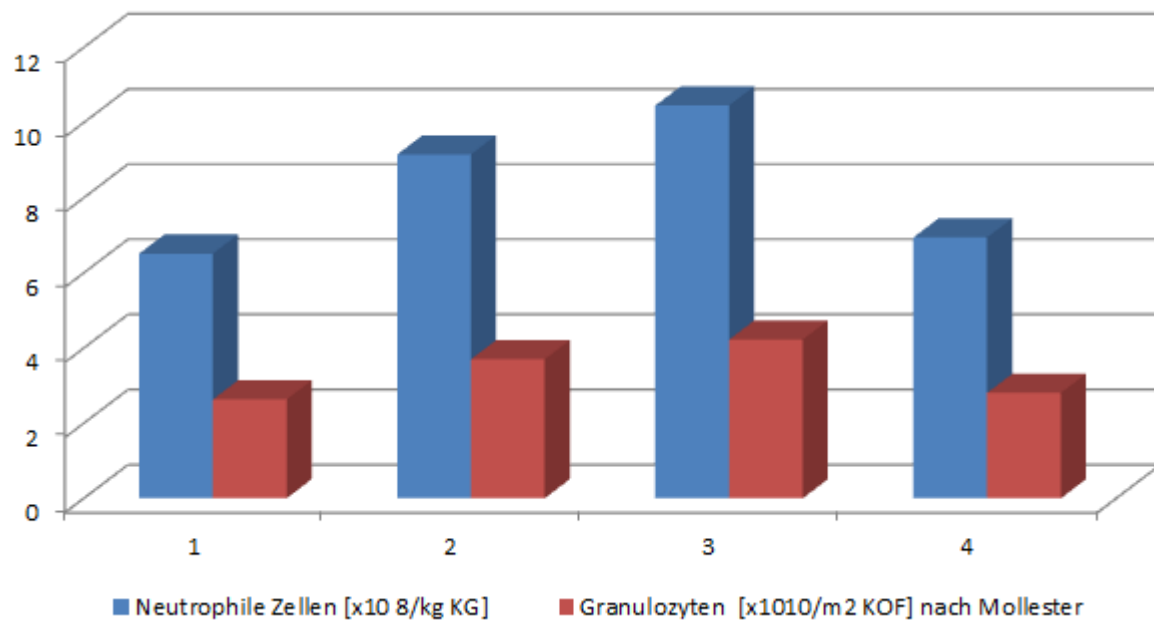


Abbildung 41: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 10

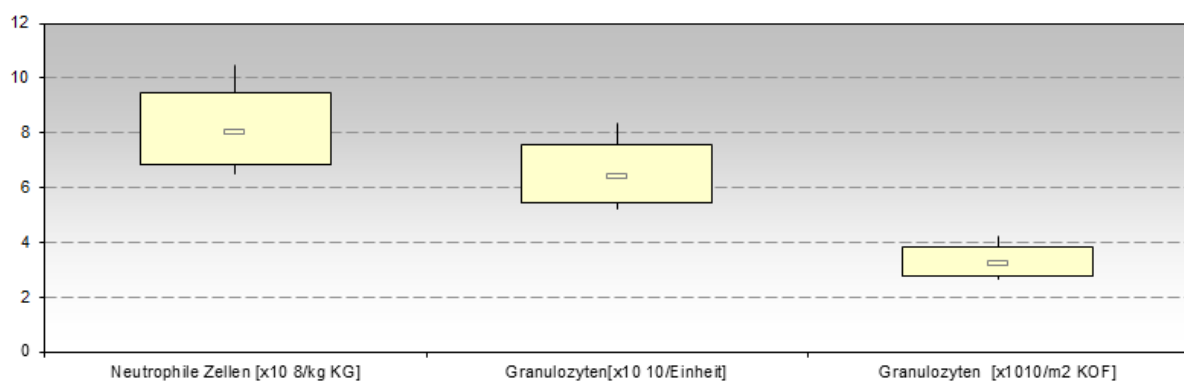


Abbildung 42: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 10

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

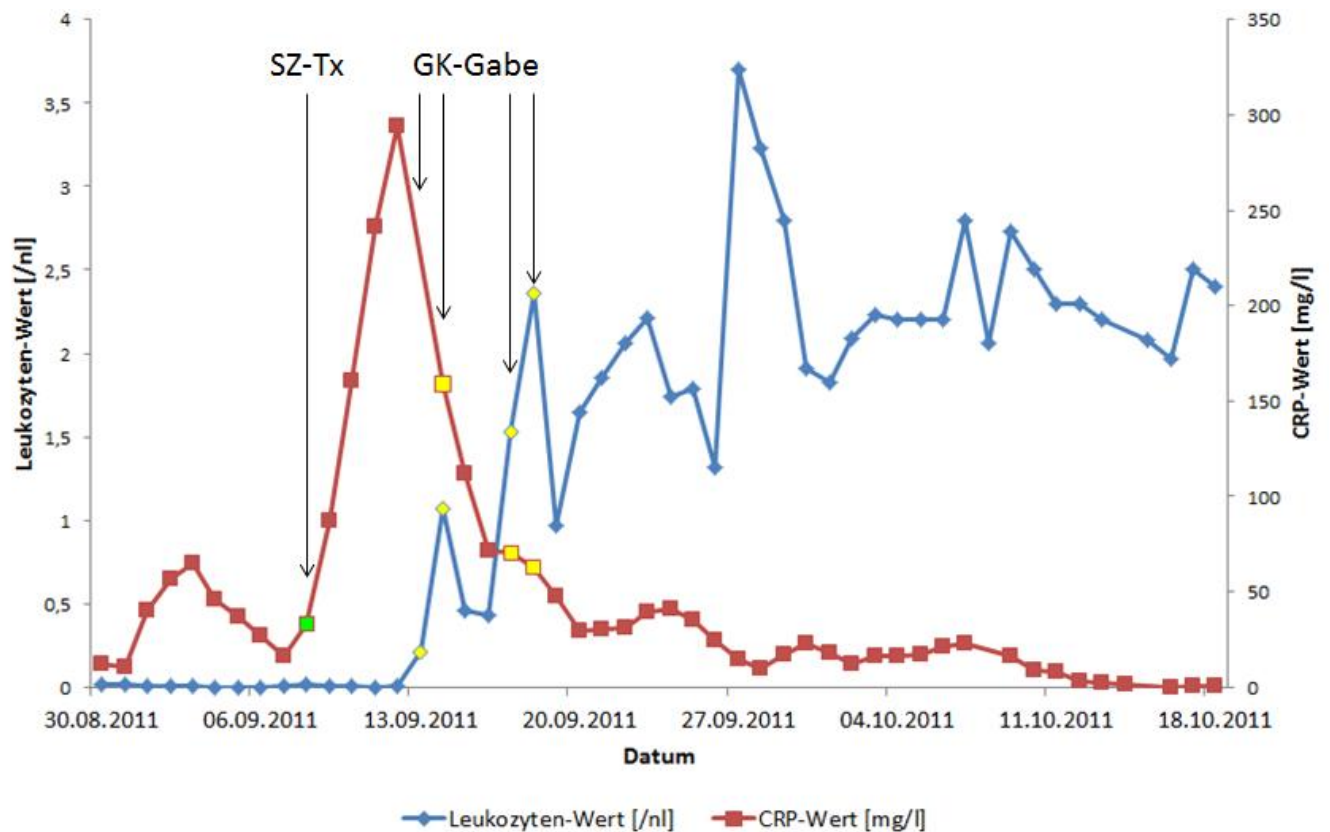


Abbildung 43: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 10

Bei Patient 10 wurde nach einem Engraftment-Failure bei St.n. CBU-Tx eine allogene SZ-Tx vorbereitet. In dieser Phase wurde auf Grund der Klinik eine Bronchoskopie am 10.08.2012 durchgeführt mit Entnahme einer BAL. Hier konnte kein spezifischer Erreger isoliert werden, jedoch war der molekulargenetische Befund für *Candida* positiv. In der HR-CT der Lunge am 17.08.2011 zeigte sich der Befund einer angioinvasiven Aspergillose. Im Serum konnte ein positiver Nachweis des Aspergillus-Antigens am 01.09.2011 mit 5,2 Einheiten erbracht werden, sowie im CT am 02.09.2011 eine Progredient der Pneumonie gezeigt werden. Nach Umstellung der Therapie konnte die allogene SZ-Tx am 08.09.2011 durchgeführt werden. In den folgenden Tagen entwickelte der Patient jedoch bei septischer Konstellation ein akutes Nierenversagen (ANV), weshalb eine Verlegung auf die Intensiv-Station in die Wege geleitet wurde. Hier erfolgten eine entsprechende Anpassung der Medikation und die Aufnahme einer Dialyse. Wegen einer ausbleibenden Besserung der Symptomatik und der stark steigenden Entzündungswerte erfolgte die Gabe von 4 GKs mit einer kurzzeitigen Unterbrechung von 2 Tagen zwischen dem 2. Und dem 3. GK. Auf Grund der Besserung der klinischen Symptomatik einhergehend mit dem Absenken des CRP-Werts in Richtung Normalbereich, sowie einem Anstieg der Leukozyten, gestützt durch den leukozytären Take am 21.09.2011 (Tag +13), konnte der Patient nach der 2. GK-Gabe auf Normalstation verlegt werden. Der thrombozytäre Take war auf Grund von zytotoxischen HLA-Antikörpern verzögert und stellte sich Anfang Oktober ein. In der KMP am 28.10.2011 konnte ein kompletter Spender-Chimärismus verzeichnet werden. Bildmorphologisch zeigte sich erst in dem HR-CT der Lunge am 02.05.2012 eine deutliche Befundbesserung der bekannten Pneumonie.

Patient 11

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

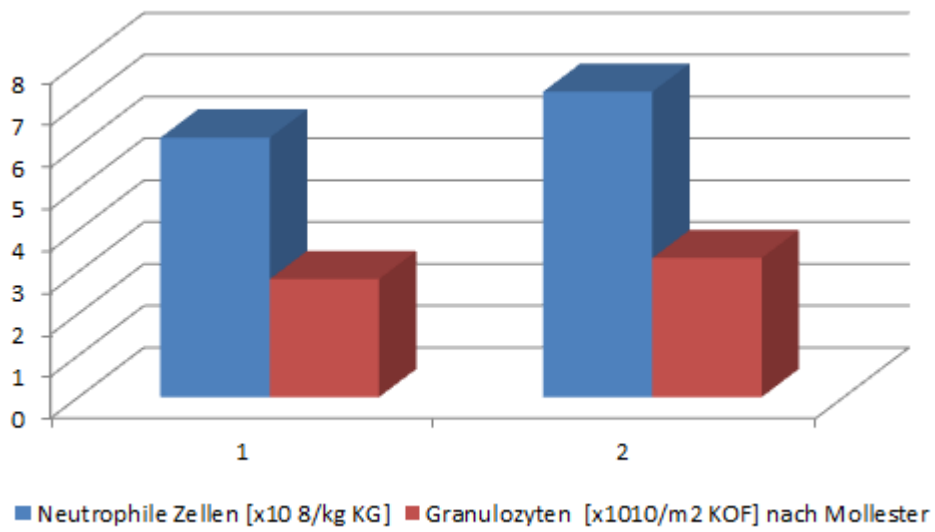


Abbildung 44: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 11

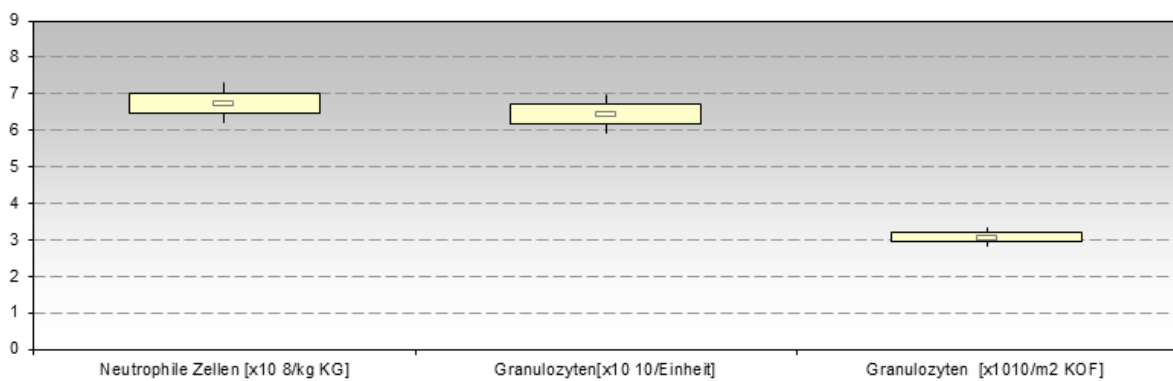


Abbildung 45: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 11

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

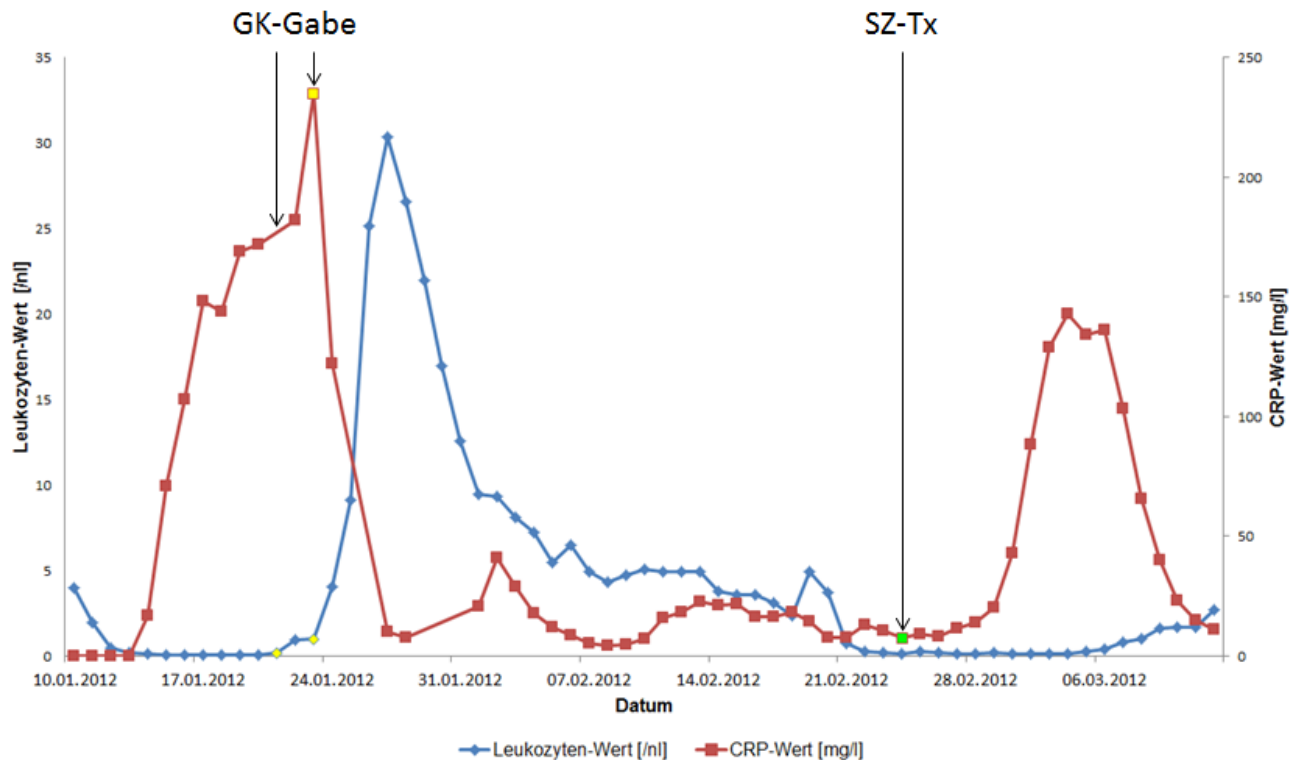


Abbildung 46: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 11

Bei Patient 11 zeigte sich bereits in der Vorgeschichte eine Pilzpneumonie. Im Rahmen der Vorbereitung zur allogenen SZ-Tx am 24.02.2012 kam es zur Ausbildung von febrilen Temperaturen. In der HR-CT am 15.01.2012 und am 16.01.2012 zeigten sich progrediente Konsolidierungen als Zeichen einer erneuten Pilzpneumonie. Trotz der Eskalation der medikamentösen Therapie kam es zu einer klinischen Verschlechterung Ausbildung einer respiratorischen Insuffizienz, weshalb der Patient auf die Intensivstation verlegt und intubiert wurde. Da es unter der Neutropenie zu deutlich steigenden Entzündungswerten kam und auch der klinische Befund keine Besserung zeigte erfolgte die Gabe von 2 GKs innerhalb von 3 Tagen. Daraufhin konnte ein deutlicher Anstieg der Leukozyten verzeichnet werden, welcher zwar nach Beendigung der zweimaligen Transfusion wieder rückläufig war, sich aber bis zu Beginn der Konditionierungs-Therapie oberhalb der Neutropenie-Grenze befand. Auch das CRP konnte gesenkt werden, so dass es sich bis über die SZ-Tx hinaus in einem Bereich um die 50 mg/l einpendelte. Hinsichtlich der klinischen Situation kam es zur Stabilisierung der respiratorischen Situation mit folgender Extubation. Die bekannten Konsolidierungen stellten sich im KM-CT am 29.01.2012 jedoch progredient dar. Erst in der Verlaufsuntersuchung am 06.02.2012 und am 16.02.2012 zeichnete sich auch der bildmorphologische Befund rückläufig ab. Der leukozytäre Take stellte sich am 09.03.2012 (Tag +14) ein, gefolgt vom thrombozytären Take am 19.03.2012 (Tag +24).

Patient 12

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

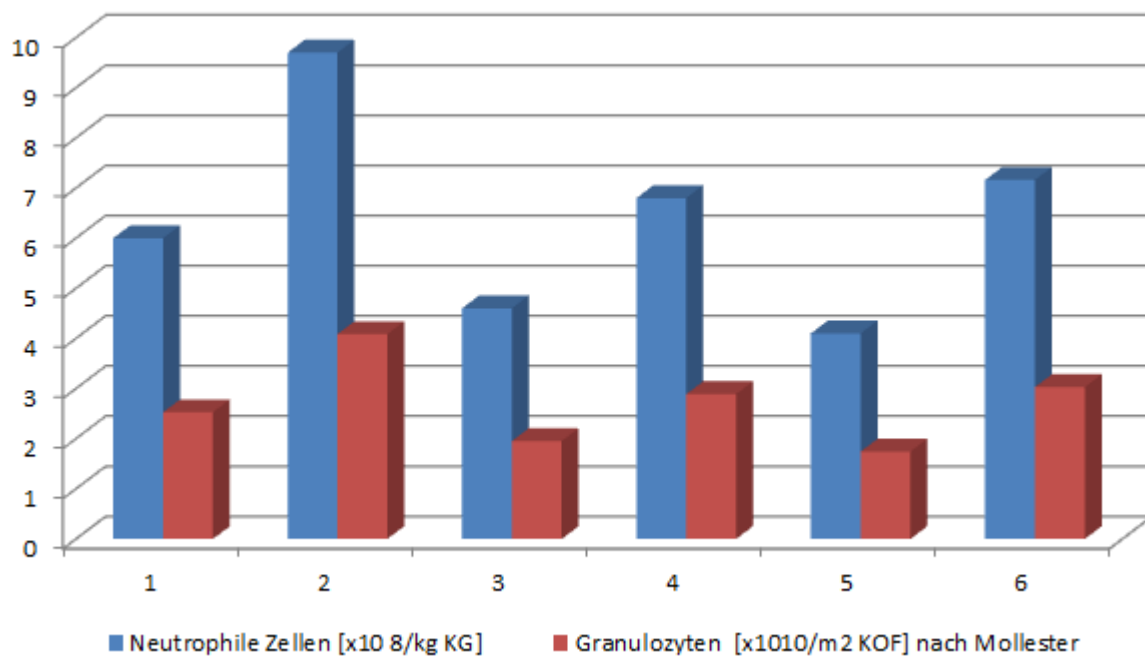


Abbildung 47: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 12

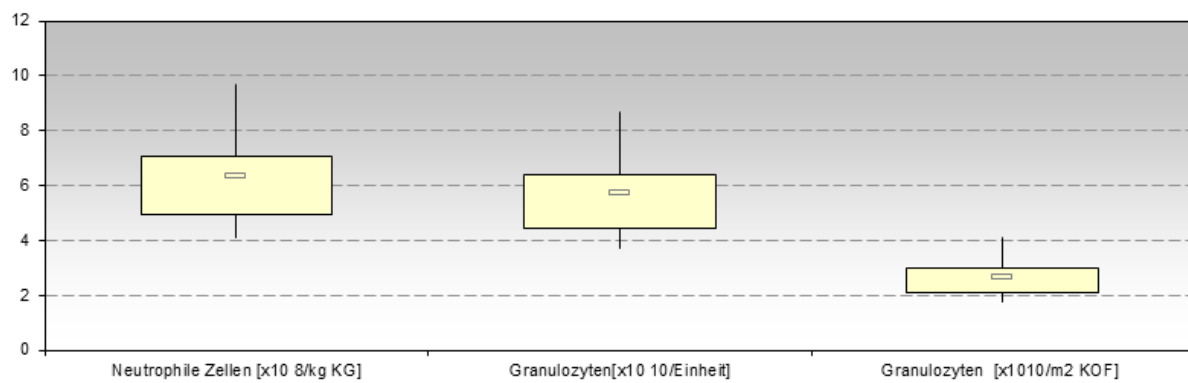


Abbildung 48: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 12

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

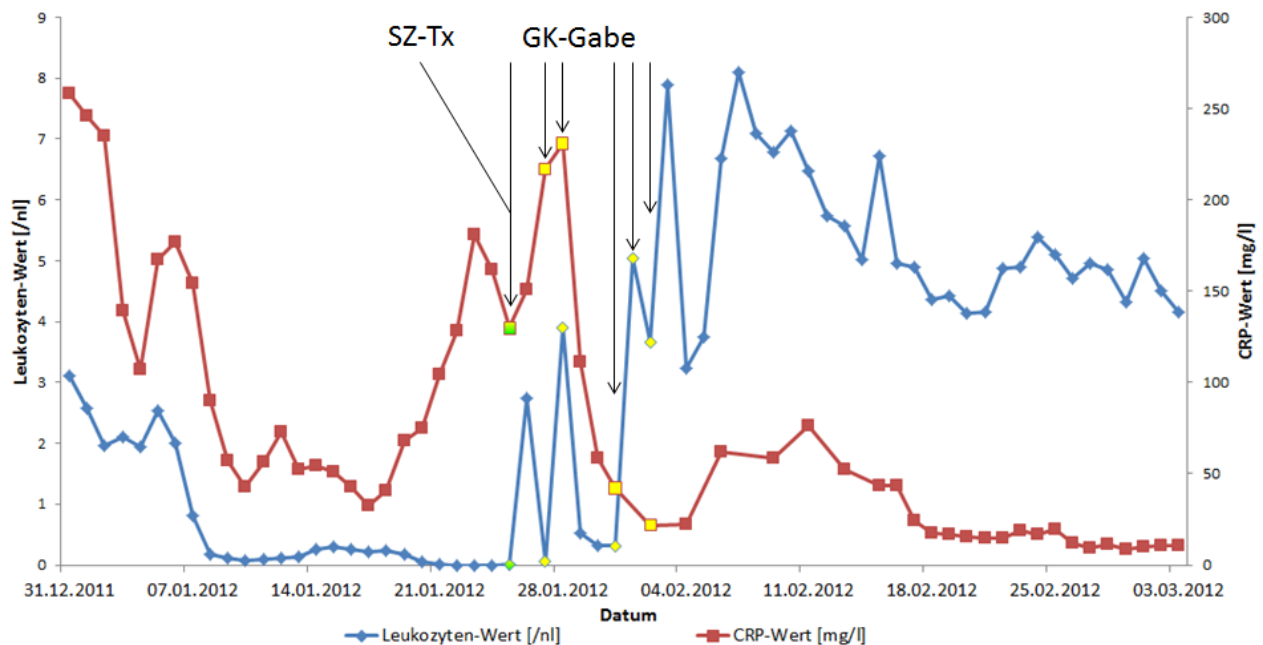


Abbildung 49: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 12

Bei Patient 12 zeigte sich bereits vor Beginn der Vorbereitung zur allogenen SZ-Tx in der HR-CT am 02.01.2012 eine Pilzpneumonie. Der Aspergillus-Antigen Nachweis war negativ. Nach entsprechender medikamentöser Therapie stellte sich eine rasche Besserung der Symptomatik ein, so dass die Induktions-Therapie begonnen werden konnte. In der Verlaufskontrolle am 16.01.2012 stellte sich jedoch der Pilz-pneumonische Herdbefund größtenprogredient dar. Auf Grund der Progredienz und der persistierenden Neutropenie wurde zum gleichen Zeitpunkt wie die SZ-Tx, welche am 25.01.2012 erfolgte, das erste von insgesamt 6 GKs transfundiert. Die Gabe der 6 Produkte wurde auf 9 Tage verteilt, wobei eine Pause von max. 2 Tage nicht überschritten wurde. Auf Grund einer respiratorischen Insuffizienz und einem ANV am Tag der Tx erfolgte die Verlegung auf die Intensivstation, wo es zu einer Vigilanzminderung und Reanimation kam. Trotz des Absenkens des CRP-Wertes und des guten Anstiegs der Leukozyten präsentierten sich im CT am 29.01.2012 zusätzlich zur bekannten Pilzpneumonie, neu aufgetretene Transparenzminderungen mit V.a. eine PcP-Infektion, und im Schädel MRT am 01.02.2012 konnte eine frischere ischämische Läsion im Kleinhirn links nachgewiesen werden. Eine intra-kraniale Blutung (ICB) konnte im CCT am 21.02.2012 ausgeschlossen werden. Nach der Stabilisierung des Patienten wurde dieser wieder auf Normalstation verlegt mit Weiterführung der Dialyse-Therapie. In der HR-CT am 09.03.2012 zeigten sich weiterhin atypische infektiöse Veränderungen begleitet durch eine Pilzpneumonie. Zusätzlich wurde am 19.03.2012 die Diagnose einer akuten Haut GvHD, sowie einer akuten Darm GvHD 4° gestellt. Trotz sofortiger Erhöhung der Steroid-Dosis zeigte sich die GvHD therapierefraktär. Es kam zu einer schrittweisen Verschlechterung des AZ, sowie zu einer progredienten Verwirrtheit und Bewusstseinsminderung. Im Schädel MRT am 28.03.2012 konnten nur die bekannten mikroangiopathischen Veränderungen und der Mediateilinfarkt rechts gezeigt werden, aber ein frischer Infarkt oder eine ICB als Ursache ausgeschlossen werden. Die Schwere der Erkrankung führte am 10.04.2012 zum Exitus letalis.

Patient 13

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

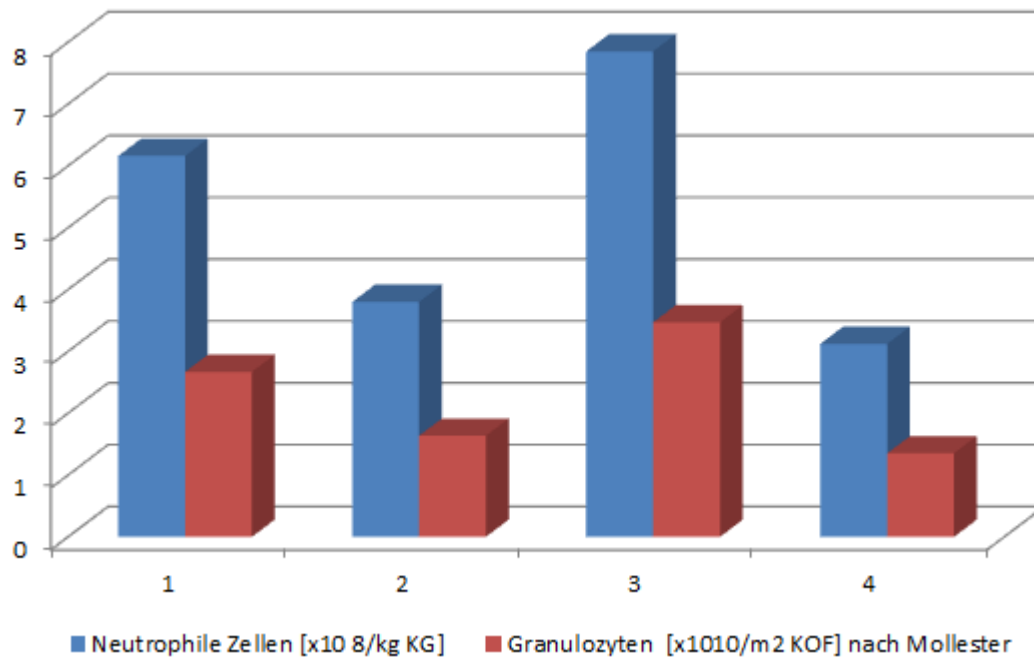


Abbildung 50: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 13

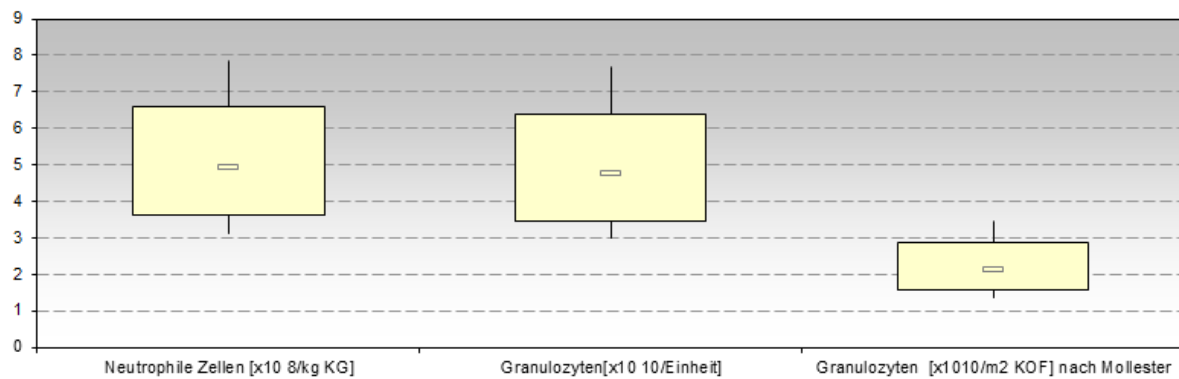


Abbildung 51: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 13

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

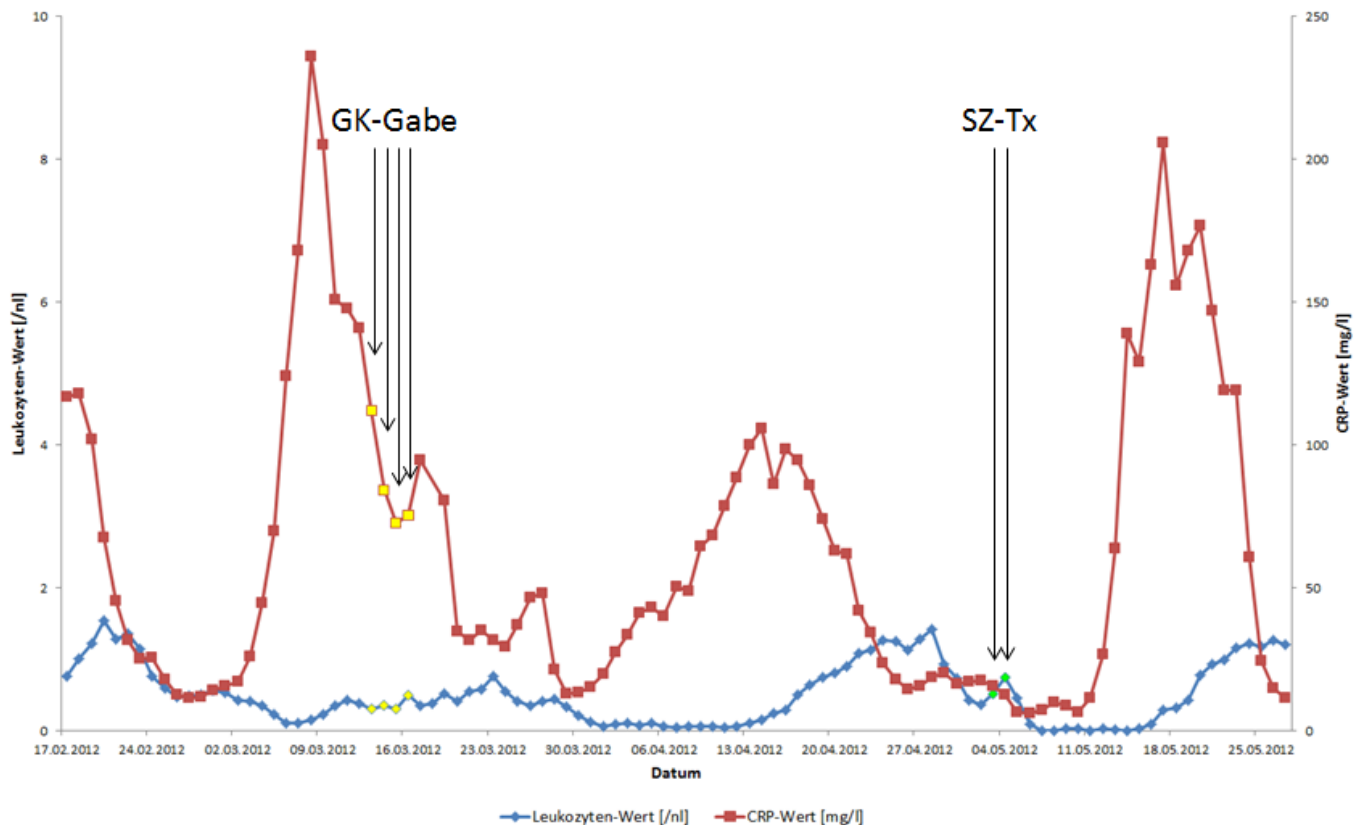


Abbildung 52: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 13

Bei Patient 13 wurde bereits im Rahmen der Therapie der sekundären AML eine Aspergillus Pneumonie diagnostiziert. Im Anschluss an die Induktions-Therapie kam es nun erneut zu einem Anstieg der CRP-Werte und in der HR-CT am 05.03.2012 zeigten sich zusätzlich zur bekannten Bronchopneumonie neu aufgetretene Herdläsionen mit Zeichen einer Pilzpneumonie. Bei St.n. Aspergillus-Pneumonie in der unmittelbaren Vorgeschichte, sowie einer ausgeprägten klinischen Symptomatik bei persistierender Neutropenie wurden trotz der sinkenden CRP-Werte 4 GKs an 4 konsekutiven Tagen transfundiert. Am Tag der letzten Gabe der Spender-Granulozyten kam es zu einer respiratorischen Partialinsuffizienz, weshalb der Patient kurzzeitig bis zur Stabilisierung auf die Intensivstation verlegt wurde. Da sich sowohl die klinische Symptomatik als auch der bildmorphologische Befund gemäß der HR-CT am 22.03.2012 stabil bis diskret rückläufig darstellten, kam es zur Weiterführung der Chemotherapie, so dass am 03.04.2012 und am 04.05.2012 die allogene SZ-Tx erfolgte. In der folgenden Neutropenie-Phase kam es erneut zu febrilen Temperaturen von bis zu 39°C und Anstieg der Entzündungswerte, wobei sich aber im HR-CT am 13.05.2012 die bekannte Pneumonie größenkonstant darstellte. In der zentralen und peripheren BK am 13.05.2012 ließ sich *Pseudomonas aeruginosa* isolieren. Nach Umstellung der Therapie gemäß Antibiogramm zeigte sich eine rasche Besserung. Der leukozytäre Take stellte sich am 22.05.2012 (Tag +19) ein, der thrombozytäre Take war zum Zeitpunkt der Entlassung (Tag +47) noch ausstehend. In der Knochenmarkspunktion am 31.05.2012 (Tag +28) konnte kein Hinweis mehr auf eine Resterkrankung festgestellt werden.

Patient 14

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

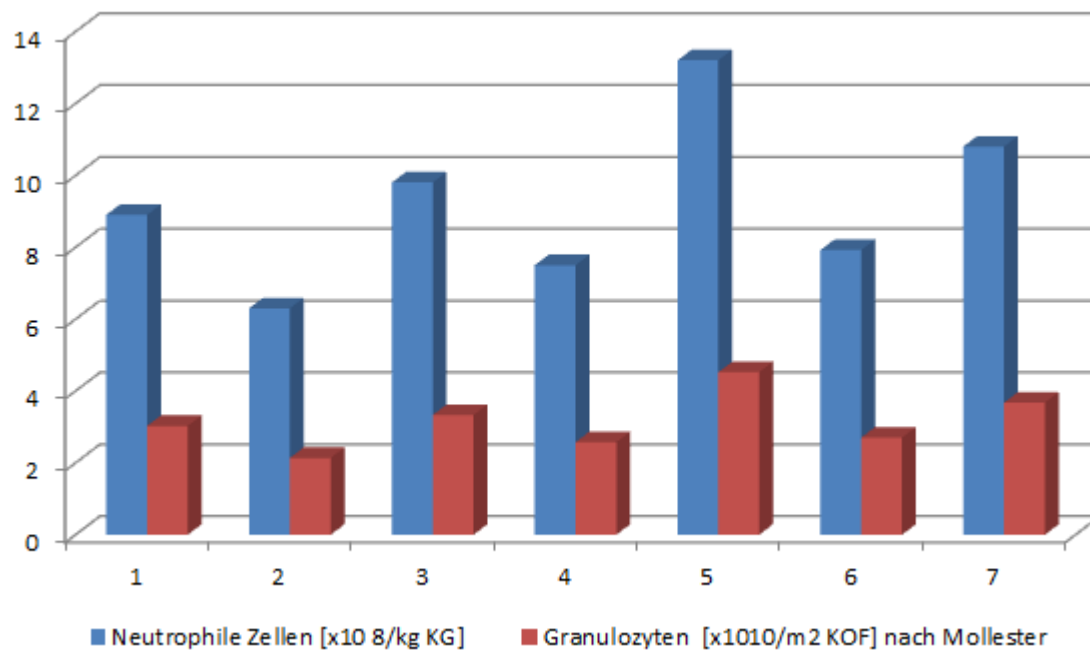


Abbildung 53: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 14

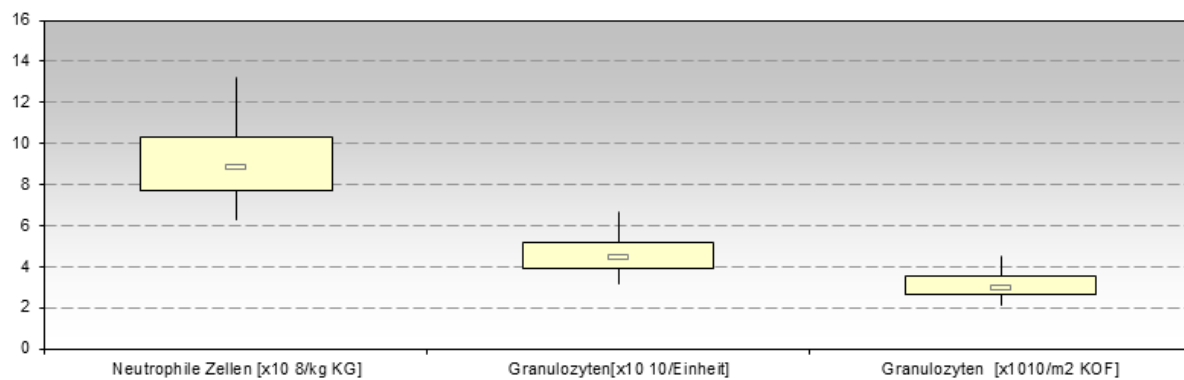


Abbildung 54: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 14

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

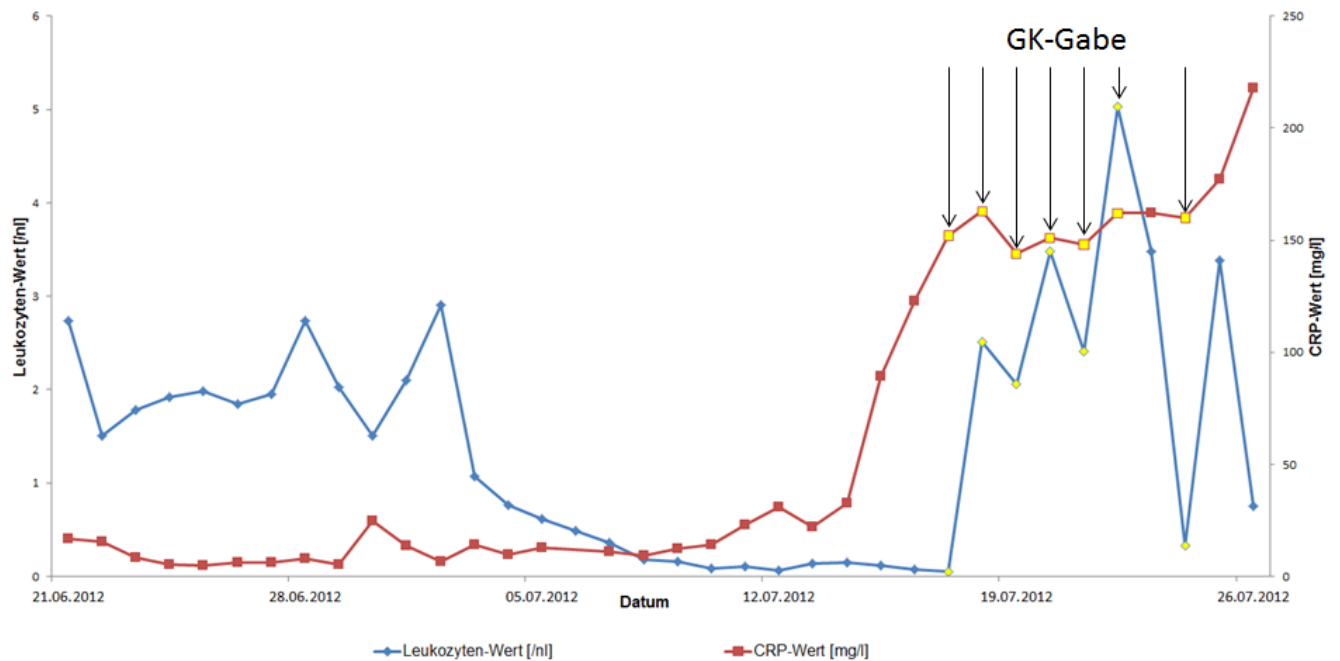


Abbildung 55: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 14

Bei Patient 14 wurde eine allogenen SZ-Tx geplant. Bereits in der Planungsphase zeigte sich im CT am 28.06.2012 eine kleine, infektiös bedingte Konsolidierung, welche sich im weiteren Verlauf gemäß der HR-CT am 06.07.2012 als beginnende Pneumonie präsentierte. Im Serum konnte das Aspergillus-Antigen mit 3,74 Einheiten als positiv nachgewiesen werden. Sowohl der bildmorphologische Befund zeigte sich mit pulmonale Aspergillomherden im HR-CT am 11.07.2012 progredient, als auch der Aspergillus-Antigen Nachweis mit steigenden Werten von 6,07 am 12.07.2012 auf 6,25 am 14.07.2012. Da sich unter der maximalen medikamentösen dennoch eine deutliche Progredienz zeigte wurden 7 GKs auf 8 Tage verteilt transfundiert. Es kam zwar laborchemisch zu einem Anstieg der Leukozyten, aber auch zu einem kontinuierlichen Anstieg des CRP-Werts und des Aspergillus-Antigens mit bis zu 8,36 Einheiten im Serum am 20.07.2012. Im KM-CT am 17.07.2012 konnte zusätzlich einen Aspergilloseherd in der Leber entdeckt werden, sowie Zeichen einer toxischen Kolitis. In der histologischen Untersuchung eines Leberpunktats erfolgte zusätzlich der Nachweis einer Leberinfiltration durch die bekannte T-PLL. Zusätzlich zur refraktären Infektsituation und der Infiltration der Leber durch die Grunderkrankung kam es im weiteren Verlauf zu einem Gerinnungsversagen. Auf Grund der ausgeprägten Pilzinfektion und der ausbleibenden Knochenmarksregeneration wurde das Behandlungskonzept auf eine Palliativtherapie umgewandelt und der Patient heimatnah verlegt.

Patient 15

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

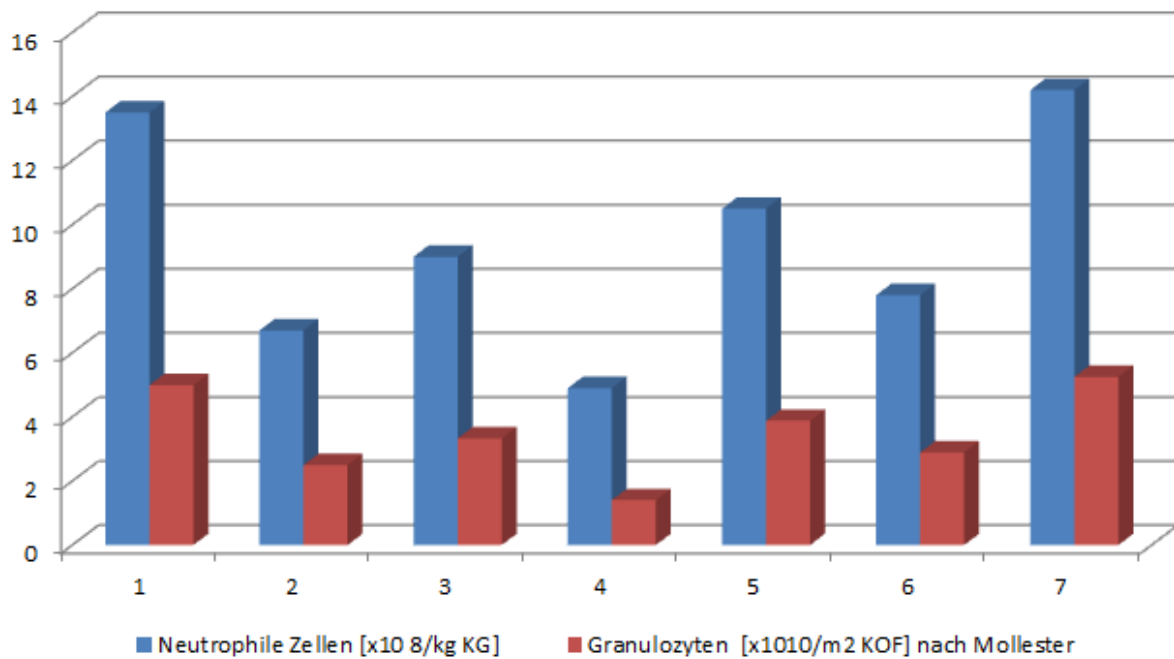


Abbildung 56: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 15

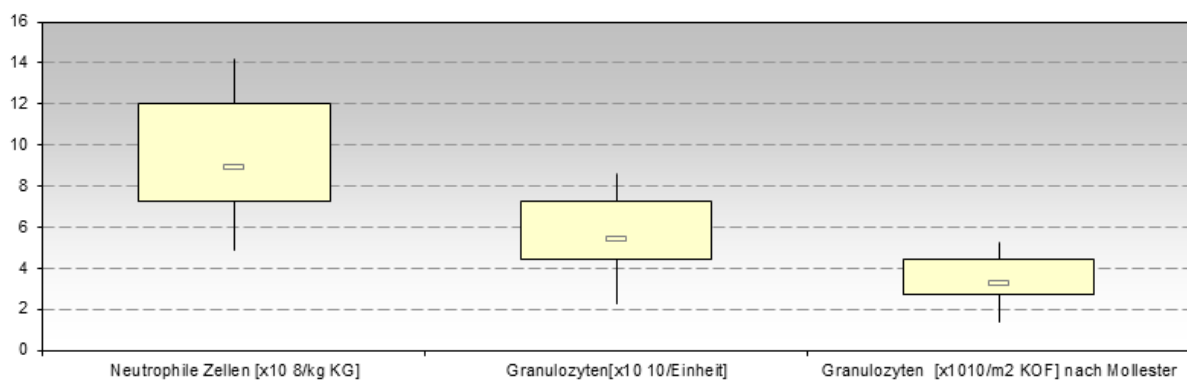


Abbildung 57: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 15

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

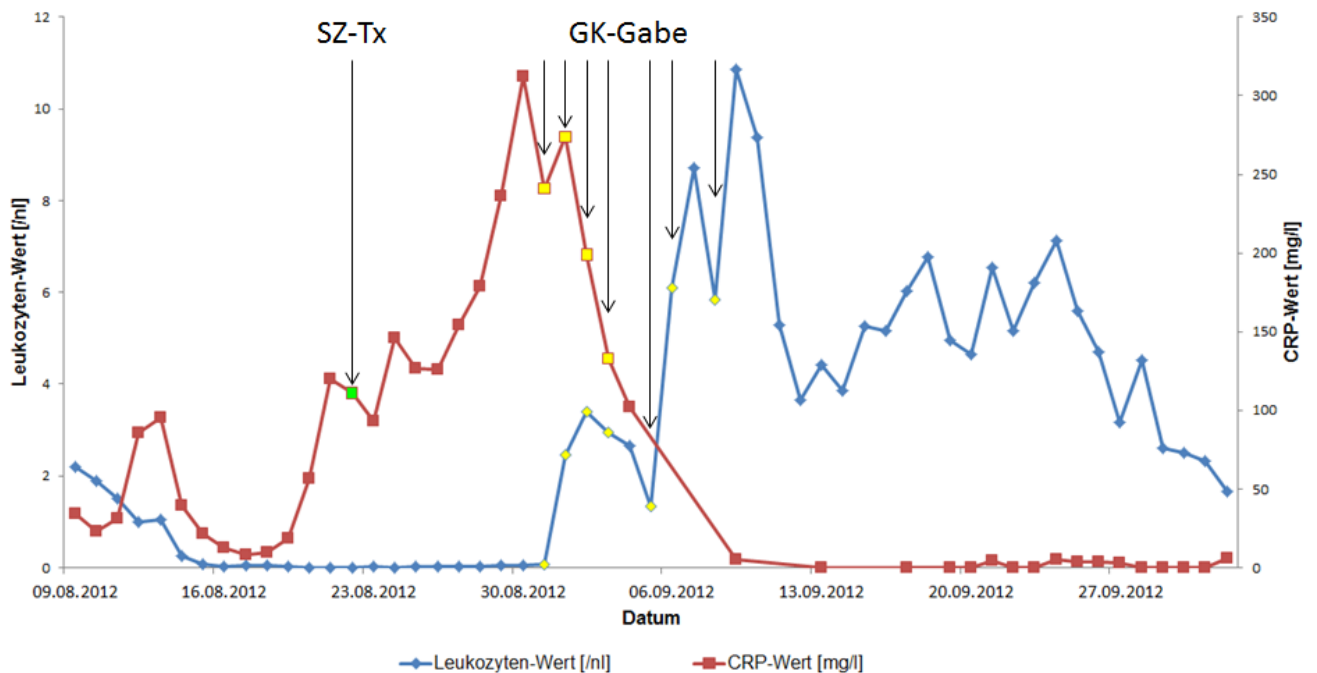


Abbildung 58: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 15

Bei Patient 15 wurde am 22.08.2012 eine SZ-Tx durchgeführt. Bereits im Vorfeld zeigten sich in der HR-CT Zeichen einer Atemwegsinfektion. Pneumonische Konsolidierungen waren zu diesem Zeitpunkt noch nicht erkennbar. Wegen febrilen Temperaturen und stetig steigenden Entzündungswerten wurde am 24.08.2012 eine Kontrolle gefahren, welche neu aufgetretene Konsolidierungen passend zu einer Pilzpneumonie aufwies. Daraufhin erfolgte eine entsprechende Umstellung der antimykotischen Medikation. Im weiteren Verlauf kam es zu einer Progredienz und Neubildung pulmonaler Aspergillomherde im KM-CT am 29.08.2012. Der Aspergillus-Antigen Nachweis im Serum war positiv. Auf Grund des ausgeprägten Befundes erfolgte zusätzlich zur medikamentösen Eskalation auch die Gabe von 7 GKs auf 9 Tage verteilt. Laborchemisch zeigten sich zwar ein deutliches Absenken des CRP-Werts in den Normbereich und ein nachhaltiger Anstieg der Leukozyten über die Neutropenie-Grenze, aber bildmorphologisch und klinisch kam es zu einem Fortschreiten der Pilzinfektion. So zeigte sich im Zuge der Disseminierung im CT am 03.09.2012 einerseits eine Progredienz der ausgeprägten Pilzpneumonie, und andererseits auch Pilzherde in der Leber und in der Milz. Im CCT am selben Tag konnte auch eine Größenprogredienz des zerebralen Infektareals mit Kompression des linken Seitenventrikels nachgewiesen werden. In der folgenden Kontroll-CCT am 07.09.2012 konnte eine weitere Größenzunahme verzeichnet werden. Im Schädel MRT am 12.09.2012 zeichnete sich die progrediente Formation als Aspergillose ab. Klinisch konnte eine zervikale Faszitis verzeichnet werden. Die zunehmende Desorientierung des Patienten mit Steigerung zur ausgeprägten Vigilanzminderung, sowie die Hämoptoe mit einhergehender respiratorischer Verschlechterung führten zur Verlegung auf die Intensivstation, gefolgt von einer Intubation bei mangelnder Oxygenation. Nachdem es zu einer Besserung der Oxygenierung kam wurde der Patient am 13.09.2012 extubiert und in den folgenden Tagen im stabilen Zustand auf Normalstation verlegt. Im weiteren Verlauf zeigte sich im Schädel MRT am 21.09.2012 weiterhin eine Größenzunahme des Aspergilloseherds mit zentraler Einblutung. Passend hierzu war das Aspergillus-Antigen steigend auf 5,3 Einheiten am 27.09.2012. Im Rahmen einer erneuten respiratorischen Verschlechterung zeigte sich in der HR-CT am 01.10.2012 die bekannten pulmonalen Aspergillusherde, sowie neu aufgetretene Herde. Die Schwere der Erkrankung führte am 03.10.2012 zum Exitus letalis.

Patient 16

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

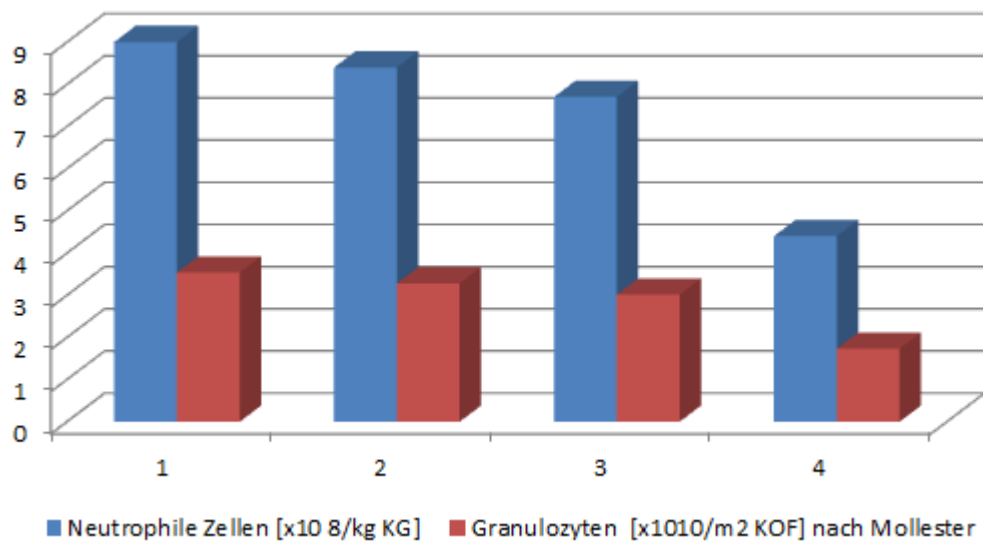


Abbildung 59: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 16

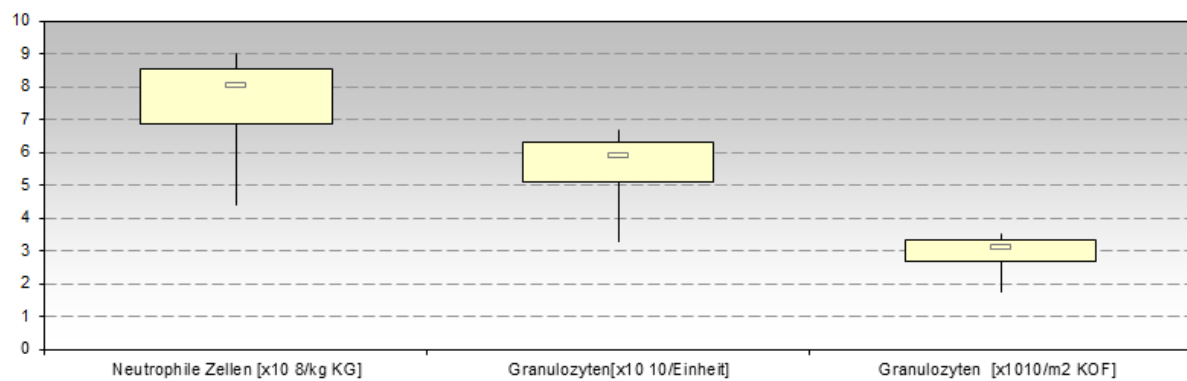


Abbildung 60: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 16

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

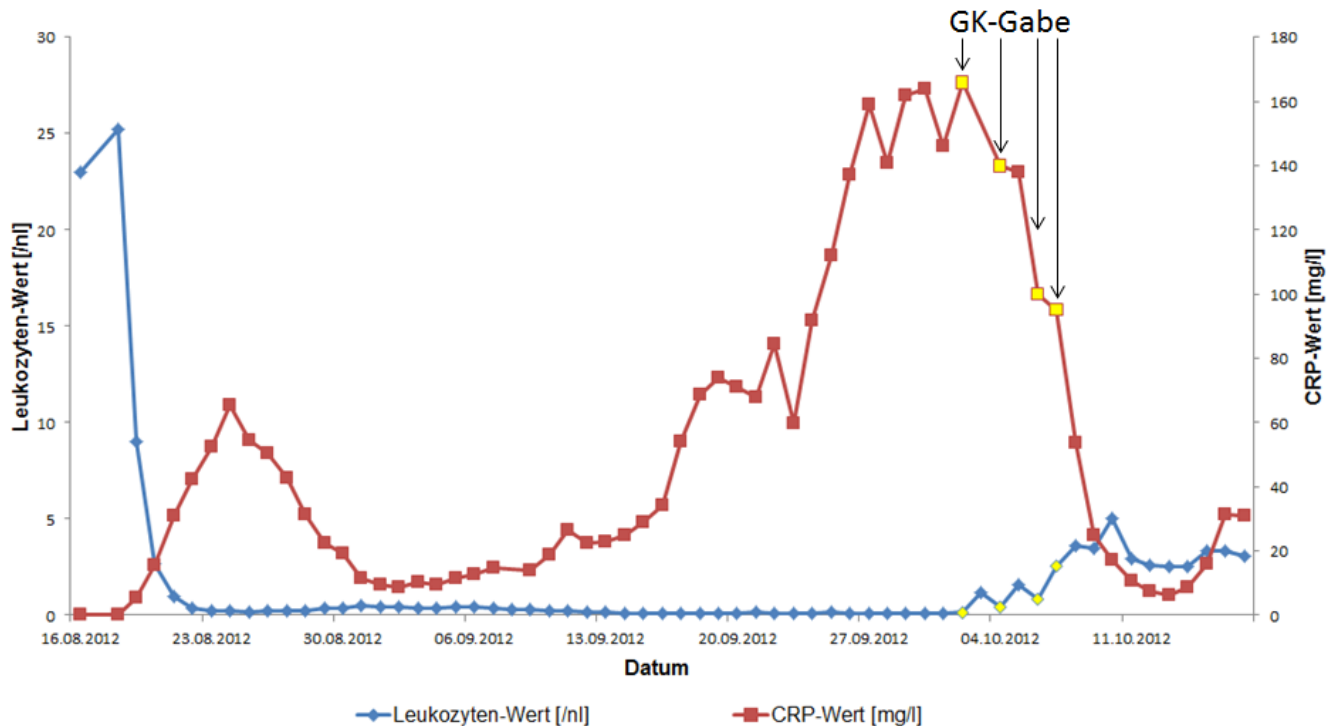


Abbildung 61: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 16

Bei Patient 16 wurde am 11.12.2012 eine allogene SZ-Tx durchgeführt, wobei sich der thrombozytäre Take am 21.12.2012 (Tag +10) einstellte, gefolgt vom leukozytären Take am 27.12.2012 (Tag +16). Im Rahmen der Vorbereitung jedoch konnte bei Verschlechterung des AZ einhergehend mit febrilen Temperaturen im KM-CT am 18.09.2012 eine angioinvasive Mykose diagnostiziert werden. Zusätzlich zur Bildgebung war der Aspergillus-Antigen Nachweis in der BAL positiv. Trotz entsprechender Therapiemodifikation zeigte sich im HR-CT am 25.09.2012 die Pilzpneumonie bei anhaltender Neutropenie progredient. Einhergehend zu der Bildgebung war auch eine Verschlechterung der Klinik zu beobachten, weshalb zunächst eine Applikation von G-CSF begonnen wurde und im weiteren Verlauf die Gabe von 4 GKs, wobei es sowohl zwischen der Gabe des 1. und des 2. Produkts, als auch des 2. und 3. Produkts zu einer kurzen Unterbrechung von jeweils einem Tag kam. Hierauf zeigte sich ein Absenken des CRP-Werts, einhergehend mit einer langsamen Rekonstitution der Leukogenese. Dies hatte sowohl eine Besserung der klinischen Symptomatik zur Folge, als auch eine bildmorphologische Regredienz der Milchglastrübungen in der HR-CT der Lunge am 10.10.2012.

Patient 17

Betrachtung der Granulozyten-Konzentrate in Abhängigkeit des Patientengewichts und der Körperoberfläche

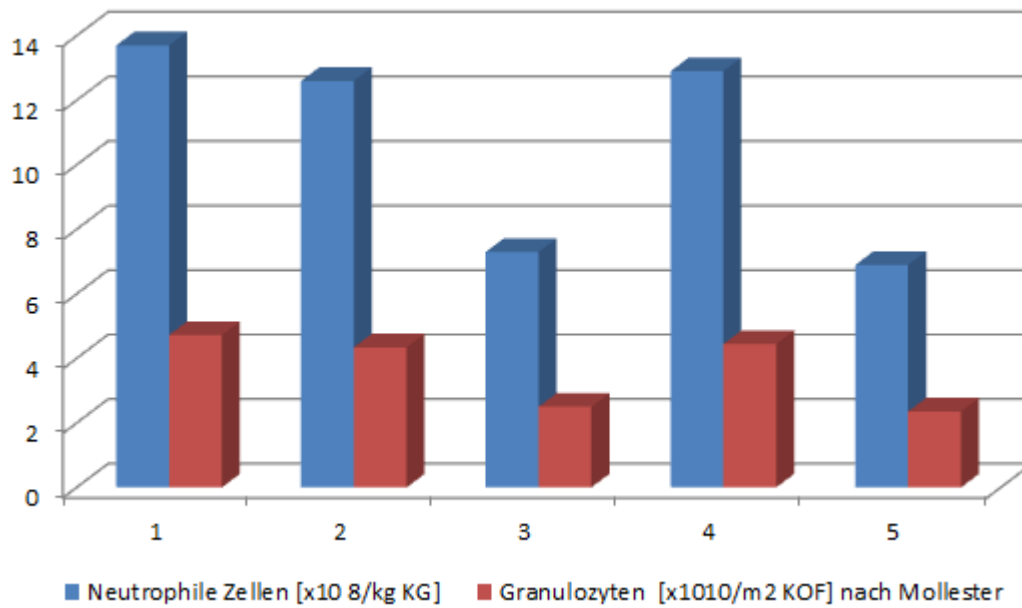


Abbildung 62: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 17

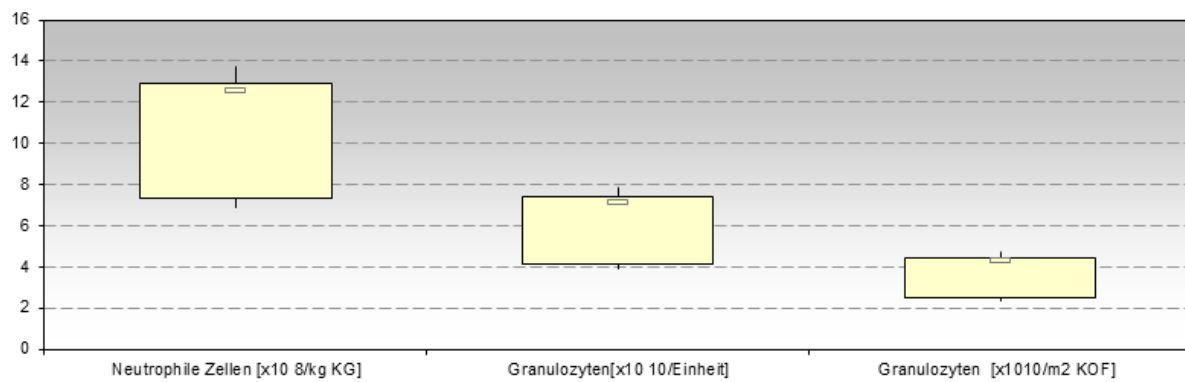


Abbildung 63: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 17

Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte vor, während und nach Granulozyten-Konzentrat Gabe

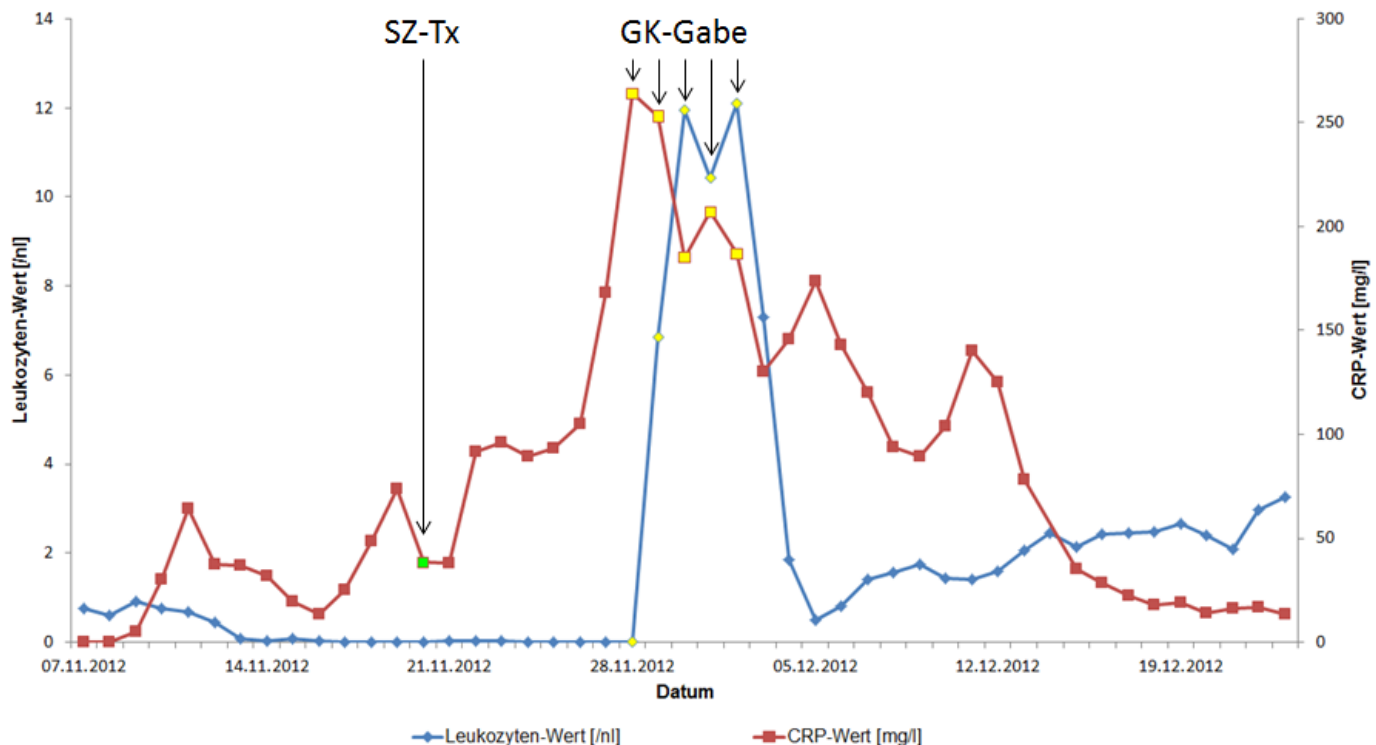


Abbildung 64: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 17

Bei Patient 17 zeigte sich während der Vorbereitungsphase zur allogenen SZ-Tx in der HR-CT am 19.10.2012 ein pleuraständiger Rundherd vereinbar mit einer Pilzpneumonie, welcher sich in der Verlaufskontrolle am 31.10.2012 nur diskret größenregredient zeigte. Der Aspergillus-Antigen Nachweis war durchweg negativ. In stabiler klinischer Situation erfolgte dann die allogene SZ-Tx am 20.11.2012. In einer erneuten HR-CT Kontrolle ein Tag später waren die pleuralen Verdichtungen unverändert und weitere pilztypische Veränderungen waren nicht nachzuweisen. Bei dem klinischen Verdacht auf eine mykotische Pleuritis wurde die Therapie entsprechend umgestellt und eine KM-CT am 26.11.2012 durchgeführt. Hier war eine Befundverschlechterung zu sehen mit neu aufgetretenen pneumonischen Konsolidierungen. Zusätzlich kam es zu progredienten abdominellen Koliken, mit bildmorphologischem Hinweis auf eine Kolitis. Wegen der Progredienz trotz Eskalation der medikamentösen Therapie erfolgte die Gabe von 5 GKs an 5 konsekutiven Tagen. Im weiteren Verlauf wurde auch eine Steroid-Therapie begonnen um eine Exazerbation der Kolitis zu vermeiden. Im Zuge der GK-Transfusion kam es zu einem schrittweisen Senken des CRP-Werts, sowie zu einem kurzen und sprunghaften Anstieg der Leukozyten-Werte. Kurz nachdem die Spender-Granulozyten vom Patienten-Organismus abgebaut waren, stellte sich aber der leukozytäre Take am 07.12.2012 ein. Der thrombozytäre Take war noch ausstehend.

3.4. Tabellarische Zusammenfassung

In den Tabellen auf den folgenden Seiten werden die bereits dargestellten Informationen nochmal zusammengefasst und kurz schematisch dargestellt.

3.4.1. Übersicht über Komplikationen bei verstorbenen Patienten

Die folgende Tabelle gibt eine Übersicht über alle 7 Patienten welche im Verlauf verstorben sind, mit Datumsangabe und der Überlebenszeit, gerechnet ab der letzten GK-Transfusion. Der Beobachtungszeitraum

betrug 120 Tage. Des Weiteren werden die Komplikationen aufgelistet, welche sich im Rahmen der geplanten oder durchgeführten allogenen Stammzell-Transplantation zeigten. Bei 4 der Patienten zeigte sich trotz der Gabe von allogenen Granulozyten eine Progredienz der Pilzinfektion und Eintritt des Todes innerhalb des ersten Monats (dunkel hinterlegt). Bei den restlichen Patienten konnte jedoch ein Ansprechen auf die Therapie verzeichnet werden. Hier erfolgte der Eintritt des Todes erst im weiteren Verlauf, wobei dieser nicht im Zusammenhang mit der Pilzinfektion stand.

Patient	Outcome	Datum	Überlebenszeit [d]	Komplikation
4	Palliativtherapie Verstorben	19.09.2011	48	Erneuter Blasten-Anstieg an Tag +26 nach Re-Transplantation
5	Verstorben	07.04.2012	116	Entwicklung einer akuten GvHD der Haut und des GIT 3- 4° Leberversagen Nierenversagen
6	Verstorben	29.11.2011	7	Verzögertes Engraftment Respiratorische Verschlechterung mit Beatmungsintensivierung Katecholamin-Pflichtigkeit Progredienz der Pilzpneumonie mit steigendem Aspergillus-Antigen Nachweis im Serum Capillary-Leak Syndrom
7	Verstorben	17.08.2011	5	Entwicklung eines Früh-Rezidivs Entwicklung einer Sepsis
12	Verstorben	10.04.2012	68	Ischämische Läsionen im Kleinhirn Entwicklung einer akuten GvHD der Haut und des GIT 4°
14	Palliativtherapie (Verstorben)	(k.A.)	(k.A.)	Pilzherde in der Lunge und in der Leber Infiltration der Leber durch Grunderkrankung mit Leberversagen Infiltration des Darms durch Grunderkrankung
15	Verstorben	03.10.2012	25	Pilzherde in der Lunge, Leber, Milz und Zerebrum

Tabelle 7: Übersicht über Komplikationen bei verstorbenen Patienten

3.4.2. Zusammenfassung der CRP und Leukozyten-Werte im Verlauf

Tabelle 8 gibt eine Zusammenfassung über den Verlauf der Entzündungswerte der einzelnen Patienten. Hierzu wurden sowohl Die CRP- als auch die Leukozyten-Werte anhand von festen Stichproben zu Beginn der GK-Gabe, am Ende der GK-Gabe, und 1 Woche nach Ende der GK-Gabe betrachtet.

Patient	CRP-Wert Beginn GK-Gabe [mg/l]	CRP-Wert Ende GK-Gabe [mg/l]	CRP-Wert 1 Woche nach Ende [mg/l]	Leukozyten Beginn GK-Gabe [x/nl]	Leukozyten Ende GK-Gabe [x/nl]	Leukozyten 1 Woche nach Ende [x/nl]	Outcome
1	292	57	7,9	0,1	5,33	4,93	Erholung
2	165	140	39,2	0,38	1,88	4,83	Erholung
3	12,06	9,4	42,9	0,01	2,33	3,35	Erholung
4	211	39,2	56	0,01	8,07	1,7	Verstorben 19.09.2011
5	46,6	30	23	0,01	6,24	7,99	Verstorben 07.04.2012
6	171	160	124	0,01	5,54	3,57	Verstorben 29.11.2011
7	74,3	34,9	56,8	0,37	6,66	3,07	Verstorben 17.08.2011
8	132	70,77	42,46	0,09	0,02	1,45	Erholung
9	100,7	28,34	5,38	0,02	0,9	1,89	Erholung
10	294	62,7	35,4	0,01	1,53	1,74	Erholung
11	172	235	20,7	0,14	0,95	9,42	Erholung
12	130	21,8	58,2	0,01	3,66	6,78	Verstorben 10.04.2012
13	112	75,6	31,7	0,31	0,5	0,77	Erholung
14	152	160	Verlegung Hospiz	0,05	0,75	Verlegung Hospiz	Palliativtherapie, k.A.
15	241	5,5	<2,9	0,07	5,84	6,04	Verstorben 03.10.2012
16	166	95,2	8,8	0,14	2,56	2,53	Erholung
17	264	187	89,5	0,1	12,1	1,75	Erholung

Tabelle 8: Zusammenfassung der CRP und Leukozyten-Werte im Verlauf

3.4.3. CRP-Veränderung im Verlauf in Bezug auf den CRP-Wert vor erster GK-Gabe

Bereits bei den CRP-Werten im Verlauf lässt sich ein Unterschied zwischen den Patienten erkennen, welche eine Progredienz der Pilzinfektion aufwiesen und welche die Infektion überlebten. Um dies noch besser herauszuarbeiten, erfolgte eine genauere Betrachtung der CRP-Veränderungen innerhalb der ersten Woche nach Beginn der ersten GK-Gabe. Der zuletzt gemessene CRP-Wert vor der ersten Gabe von Spender-Granulozyten wird als Ausgangswert hergenommen und die weiteren Werte hierzu in Relation gesetzt.

Patient	Δ [%] zu Tag 2	Δ [%] zu Tag 3	Δ [%] zu Tag 4	Δ [%] zu Tag 5	Δ [%] zu Tag 6	Δ [%] zu Tag 7	Δ [%] zu Tag 14
6	n.b.	129,82	123,39	192,40	101,75	103,51	n.b.
7	26,19	12,79	36,06	102,93	n.b.	97,23	n.b.
14	107,24	94,74	99,34	97,37	106,58	106,58	n.b.
15	113,69	82,57	55,19	42,32	n.b.	n.b.	1,2
Median	107,24	88,65	77,26	100,15	104,17	103,51	--

Tabelle 9: CRP-Veränderung im Verlauf in Bezug auf CRP-Wert vor erster GK-Gabe bei verstorbenen Patienten

Patient	Δ [%] zu Tag 2	Δ [%] zu Tag 3	Δ [%] zu Tag 4	Δ [%] zu Tag 5	Δ [%] zu Tag 6	Δ [%] zu Tag 7	Δ [%] zu Tag 14
1	77,05	36,30	19,52	12,12	8,63	7,57	2,71
2	89,70	93,94	84,85	86,67	73,94	47,64	23,76
3	97,62	74,60	59,52	55,56	76,19	133,33	476,98
4	58,77	30,28	22,89	18,58	9,38	5,92	14,64
5	59,23	31,33	25,11	19,10	17,81	64,38	49,36
8	154,55	129,55	81,06	54,52	33,89	42,99	16,45
9	87,64	82,69	72,02	90,56	78,95	72,29	60,59
10	54,08	38,10	24,42	23,95	21,33	16,33	13,37
11	105,81	136,63	70,93	n.b.	n.b.	5,81	n.b.
12	116,15	166,92	177,69	85,38	44,92	32,46	n.b.
13	75,27	64,91	67,50	84,55	n.b.	72,14	28,30
16	n.b.	84,34	83,13	60,24	57,35	32,35	4,52
17	95,83	70,08	78,41	70,83	49,24	55,30	35,61
Median	88,67	74,60	70,93	57,90	44,92	42,99	16,62

Tabelle 10: CRP-Veränderung im Verlauf in Bezug auf CRP-Wert vor erster GK-Gabe bei überlebenden Patienten

Überträgt man die Berechnungen in Boxplot Diagramme kann man jeweils durch die Mediane eine Trendlinie legen.

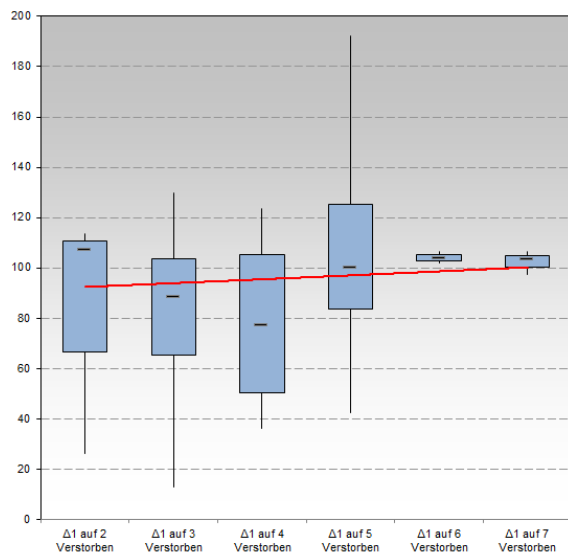


Abbildung 65: Boxplot Diagramm - CRP-Veränderung im Verlauf bei den verstorbenen Patienten

Betrachtet man nun die Ergebnisse der Patienten welche eine Progredienz der Pilzinfektion aufwiesen, so zeigen die Median-Werte eine initialen Zunahme gefolgt von einer leichten Absenkung in den ersten Tagen. Gegen Ende einer Woche kommt es jedoch wieder zu einem deutlichen Anstieg. Bezieht man in die Beobachtung auch die Werte zwischen dem 1. und 3. Quartil mit ein so zeigt sich zunächst eine konstante Streuung der Werte im selben Bereich. Im Verlauf kommt es aber auch hier zu einer Zunahme der Werte. Der Trend zeigt einen leicht steigenden Verlauf.

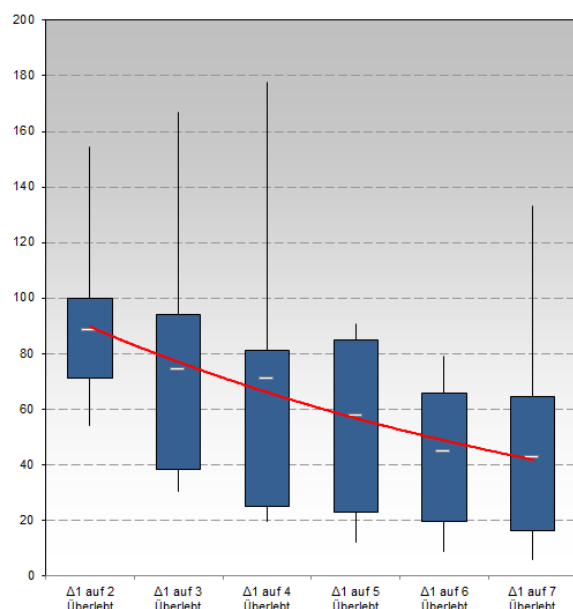


Abbildung 66: Boxplot Diagramm - CRP-Veränderung im Verlauf bei den überlebenden Patienten

Bei der Auswertung der CRP-Veränderungen von Patienten, welche ein Ansprechen auf die GK-Gabe zeigten, kann man von Anfang an einen stetigen Abfall, sowohl der Median-Werte als auch der Werte zwischen dem 1. und 3. Quartil verzeichnen. Die Trendlinie zeigt einen deutlich abfallenden Verlauf.

3.4.4. Zusammenfassung im Hinblick auf den Zeitpunkt der GK-Gabe

In den folgenden Tabellen werden die Patienten zusammengefasst im Hinblick auf den Zeitpunkt der GK-Gabe. Hierbei wird unterschieden, ob die Transfusion der Spender-Granulozyten im Rahmen der Vorbereitung zu einer allogenen SZ-Tx erfolgte, unmittelbar vor Transplantation oder nach erfolgter allogener SZ-Tx. Bei Patient 8 erfolgte zunächst vor der Transplantation eine GK-Gabe, was zur Stabilisierung der klinischen Situation führte mit Senkung der CRP-Werte. Des Weiteren wurden GKs transfundiert nach durchgeführter SZ-Tx zur Überbrückung der neutropenen Phase bis zum hämatologische Take. Da die GK-Gabe ursprünglich vor der Tx begonnen wurde, erfolgt die Auflistung entsprechend in Tabelle 68.

GK-Gabe im Rahmen der Vorbereitung zu einer allogenen SZ-Tx

Patient	Neutropeniedauer [d]	Anzahl GKs	Überlebenszeit [d]	Outcome
2	13	4	>120 Tage	Erholung
11	10	2	>120 Tage	Erholung
13	17	4	>120 Tage	Erholung
14	12	7	(k.A.)	Palliativ-Th.
16	42	4	>120 Tage	Erholung

Tabelle 11: GK-Gabe im Rahmen der Vorbereitung zu einer allogenen SZ-Tx

GK-Gabe unmittelbar vor allogenen SZ-Tx

Patient	Neutropeniedauer [d]	Anzahl GKs	Überlebenszeit [d]	Outcome
7	1	6	5	Verstorben
8	3	13	>120 Tage	Erholung

Tabelle 12: GK-Gabe unmittelbar vor allogenen SZ-Tx

GK-Gabe nach erfolgter allogenen SZ-Tx

Patient	Neutropeniedauer [d]	Anzahl GKs	Überlebenszeit [d]	Outcome
1	23	4	>120 Tage	Erholung
3	9	3	>120 Tage	Erholung
4	8	5	48	Verstorben
5	9	7	116	Verstorben
6	22	13	7	Verstorben
9	16	5	>120 Tage	Erholung
10	55	4	>120 Tage	Erholung
12	18	6	68	Verstorben
15	18	7	25	Verstorben
17	17	5	>120 Tage	Erholung

Tabelle 13: GK-Gabe nach erfolgter allogenen SZ-Tx

3.5. Überlebenszeitanalyse

Die Kaplan-Meier Methode ist eine statistische Berechnungshilfe um die Überlebenswahrscheinlichkeit eines Patienten zu bestimmen. Die Berechnung beruht darauf, dass der gesamte Beobachtungszeitraum in unabhängige Intervalle unterteilt wird. Diese unterschiedlichen Intervalle werden durch die Todeszeitpunkte der Patienten bestimmt und sind dementsprechend unabhängig voneinander und folgen keinem zeitlich starren Schema. Es ist möglich für jedes einzelne Intervall eine bedingte Wahrscheinlichkeit zu berechnen. Von größerer Bedeutung ist es jedoch die Gesamtwahrscheinlichkeit zu bestimmen, wobei die jeweiligen bedingten Wahrscheinlichkeiten miteinander multipliziert werden. Die folgende Tabelle stellt die Berechnungsgrundlage inklusive der Ergebnisse nach der Kaplan-Meier-Methode dar.^{104 105 106 107}

Sowohl bei Patient 4 als auch Patient 14 wurde das Therapieschema auf Grund der sich präsentierenden palliativen Situation umgestellt und sind daher nicht in der Berechnung der Kaplan-Meier-Kurve miteinbezogen. Des Weiteren konnte bei Patient 14 den Akten kein Todesdatum entnommen werden, da dieser heimatnah verlegt wurde.

Der Beobachtungszeitraum entsprach 120 Tage, begonnen am Tag der letzten GK-Transfusion. Hierdurch konnte sowohl der initiale Verlauf nach GK-Gabe analysiert werden als auch der längerfristige Verlauf mit einsetzen der Hämatopoese nach erfolgreich verlaufener allogener Transplantation.

Patient	Tod	t_i [d]	r_i	d_i	p_i	$S(k)$
14	Palliativtherapie	Keine Angabe	17	0		
7	Ja	5	16	1	0,9375	0,9375
6	Ja	7	15	1	0,9333	0,8750
15	Ja	25	14	1	0,9286	0,8125
4	Ja	48	13	0		
12	Ja	68	12	1	0,9167	0,7448
5	Ja	116	11	1	0,9091	0,6771
8	Nein	>120				
1	Nein	>120				
2	Nein	>120				
3	Nein	>120				
9	Nein	>120				
10	Nein	>120				
11	Nein	>120				
13	Nein	>120				
16	Nein	>120				
17	Nein	>120				

Tabelle 14: Kalkulation für die Kaplan-Meier Schätzung

¹⁰⁴ (Bewick, Cheek, Ball et al, 2004)

¹⁰⁵ (Zwiener, Blettner & Hommel, 2011)

¹⁰⁶ (Ziegler, Lange & Bender, 2007)

¹⁰⁷ (Held, 2010)

t_i : Überlebenszeit in Tagen
 r_i : Anzahl der Überlebenden
 d_i : Anzahl an Todesfällen
 p_i : Bedingte Wahrscheinlichkeit
 $S(k)$: Gesamtwahrscheinlichkeit

Tabelle 15: Legende für die Kalkulation

Die oben angeführten Berechnungen lassen sich wie folgt in einer sogenannten Kaplan-Meier-Kurve darstellen.

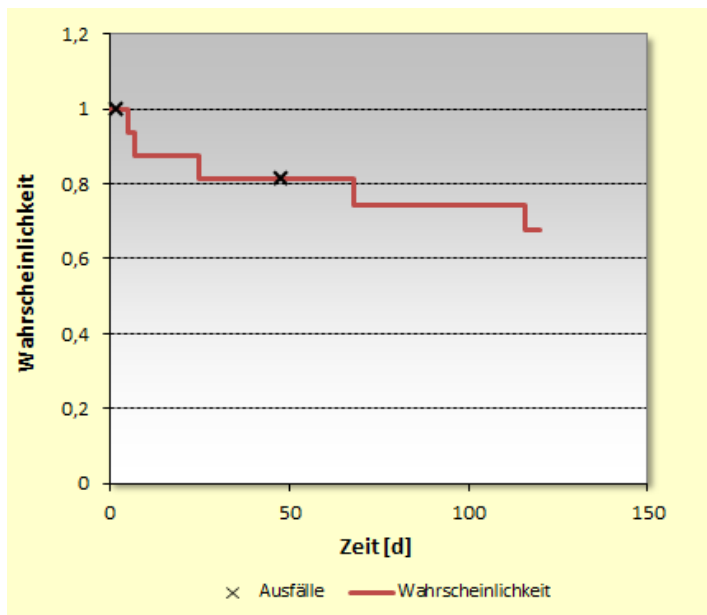


Abbildung 67: Kaplan-Meier Kurve

4. Diskussion

4.1. Herstellung der Granulozyten-Konzentrate

Von Januar 2011 bis Dezember 2012 wurden insgesamt 57 gesunde, männliche Fremdspender aus dem Spenderkollektiv der transfusionsmedizinischen Einheit des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Universitätsklinikums Regensburg (UKR) zur Herstellung von insgesamt 99 Granulozyten-Konzentraten für 17 Patienten aus der Klinik für Hämatologie und Onkologie herangezogen.

Auf Grund der Altersverteilung der Spender am UKR waren 66,7% der Spender zum Zeitpunkt der Apherese <30 Jahre. Das Durchschnittsalter betrug 28 Jahre (20 bis 48 Jahre).

Im Rahmen der dualen Mobilisation bekamen die Spender unabhängig vom Körpergewicht eine Einmaldosis G-CSF von 480 µg s.c. ca. 12 Stunden vor der ersten Spende appliziert, was einer Dosis von 4,57 bis 8,00 µg G-CSF/kg KG (Median 6 µg/kg KG) entspricht. Zeitgleich zur G-CSF Applikation erhielten die Spender 8 mg Dexamethason, sowie weitere 4 mg Erhaltungsdosis ca. 12 Stunden vor der zweiten Spende. Dies entspricht 0,08 bis 0,13 mg Dexamethason/kg KG (Median 0,10 mg/kg KG), respektive 0,04 bis 0,07 mg Dexamethason/kg KG.

Mit dem vorliegenden Schema konnte Leukozyten-Werte am 1. Apherese-Tag von 18,95 bis 56,41/nl (Median 33,8/nl) und am 2. Apherese-Tag von 12,72 bis 36,1/nl (Median 21,16/nl) verzeichnet werden.

Es gibt nun verschiedene Möglichkeiten die mobilisierten Granulozyten zu gewinnen. Ein einfaches und komplikationsloses Verfahren ist die Isolierung der Granulozyten aus einer Vollblutspende, wobei jedoch der Ertrag an Granulozyten eher gering ausfällt und nicht geeignet ist für die Herstellung von Granulozyten-Konzentrate für den therapeutischen Einsatz bei erwachsenen, neutropenen Patienten mit therapierefraktären Infektionen.¹⁰⁸ Ein weiteres Verfahren ist die Filtration. Bei dieser Methode lässt sich zwar eine ausreichende Ausbeute erreichen, jedoch weisen die filtrierten Zellen einen Funktionsverlust hinsichtlich ihrer Phagozytosefähigkeit auf. Bei der Apherese hingegen kann sowohl eine gute Ausbeute erzielt werden, als auch eine normale Phagozytosefähigkeit. Aus diesem Grund wurde zur Gewinnung der Spender-Granulozyten die Apherese-Technik verwendet.¹⁰⁹ Hierdurch konnten Produkte hergestellt werden mit einem Durchschnittsvolumen von ca. 300 ml (173-364 ml) mit $6,65 \times 10^{10}$ nG/Einheit am 1. Apherese-Tag (1,26 bis $12,58 \times 10^{10}$ nG/Einheit) und $3,68 \times 10^{10}$ nG/Einheit am 2. Apherese-Tag ($2,3-6,72 \times 10^{10}$ nG/Einheit). Die Produkte lagen somit alle innerhalb der Spezifikationen der Bundesärztekammer.

Die Ausbeute ist jedoch nicht nur abhängig davon, mit welcher Methode gesammelt wird, sondern auch von der Mobilisierung, also der Anzahl der Granulozyten im peripheren Blut der Spender. Diese kann positiv beeinflusst werden durch ein adäquates Mobilisationsregimen. Auf Grund der Werte, welche sich vor der durchgeführten Apherese im peripheren Blut messen lassen, lässt darauf schließen, dass das angewandte Schema der dualen Mobilisation ein adäquates Regimen ist. Dies kann auch durch Daten mehrerer verschiedener Studien belegt werden, welche seit Einführung des G-CSF zur Spenderstimulation durchgeführt wurden. So wird bei Lightfoot et al deutlich, dass die Sammelausbeute bei Verwendung von G-CSF mit $4,2 \pm 2,3 \times 10^{10}$ pro Einheit oder G-CSF plus Dexamethason mit $6,4 \pm 2,5 \times 10^{10}$ pro Einheit signifikant höher liegt als bei einer Mobilisation mit Dexamethason alleine, wo lediglich ein Ertrag von $2,2 \pm 1,2 \times 10^{10}$ pro Einheit erzielt wird.¹¹⁰ Auch Jendiroba et al verglich in einer Studie unterschiedliche Mobilisationsregimen. Hier zeigte sich bei der Stimulation mit G-CSF ein Anstieg der WBCs im peripheren Blut von 145 bis 160%, wohin gegen Prednisolon nur einen weitaus kleineren Anstieg nach sich zog. Dies führte folglich zu einer besseren Ausbeute bei den Spendern, welche mit G-CSF stimuliert wurden. Die Effektivität war unabhängig davon ob die Gabe des G-CSF täglich erfolgte oder mit

¹⁰⁸ (Kikuta, Ohto, Nemoto et al, 2006)

¹⁰⁹ (Russell & Powles, 1976)

¹¹⁰ (Lightfoot, Leitman & Stroncek, 2000)

Unterbrechungen.¹¹¹ Diese Erkenntnis spielt für den Kostenfaktor der Therapie eine große Rolle. Auch Dale et al zeigte die Effektivität der kombinierten Stimulation, wobei Werte von durchschnittlich $77,4 \pm 6,4 \times 10^9$ PMNs pro Apherese erreicht wurden.¹¹² Eine Stimulation mit Kortikosteroiden alleine ist hingegen deutlich weniger effektiv und erbrachte bei Appelbaum et al lediglich einen Sammelertrag von $2-3 \times 10^{10}$ Neutrophilen.¹¹³ Zusätzlich muss bei der Mobilisation mit Steroiden bedacht werden, dass die Bildung eines posterioren subkapsulären Katarakts gefördert werden kann.^{114 115}

Die Medikamentenapplikation wurde von den Spendern am Universitätsklinikum Regensburg gut toleriert. Vereinzelt zeigten sich leichte Nebenwirkungen, welche nur vorübergehend waren wie Unruhe, Schlaflosigkeit, Kopfschmerzen und Schweißausbruch. Eine medikamentöse Therapie der Nebenwirkungen wurde jedoch nicht benötigt. McCullough et al. analysierten in ihrer Arbeit die Auswirkung unterschiedlicher Dosen an G-CSF auf gesunde Granulozyten-Spendern. Hier zeigten sich bei 69% der Spender Medikamenten-assoziierte Nebenwirkungen mit folgender prozentualen Verteilung: 47-68% Knochen- und Muskelschmerzen, 15-26% Kopfschmerzen, 0-10% Müdigkeit und 3-6% Übelkeit. 72-79% der Spender, welche Nebenwirkungen berichteten hatten eine entsprechende Schmerzmedikation benötigt.¹¹⁶ Auch Bux et al. berichtete in einer multizentrischen Studie bei 58% der Spender über G-CSF-assoziierte Nebenwirkungen.¹¹⁷

Hinsichtlich der Langzeitfolgen nach erfolgter dualer Mobilisation gesunder Fremdspender zur Granulozyten-Apherese gibt es nur wenige Daten. Quillen et al führten bisher als einzige Gruppe eine 10-Jahres follow-up Studie durch, wobei den Granulozyten-Spendern Thrombozyten-Spendern als Kontrollgruppe gegenübergestellt wurden. Ein Vergleich der beiden Gruppen zeigt aus statistischer Sicht keine Unterschiede in Bezug auf eine Vielzahl verschiedener Blutbild-Werte. Jedoch zeigt sich bei der Beobachtung von einzelnen Granulozyten-Spendern ein signifikanter Abfall sowohl der absoluten Neutrophilen als auch der absoluten Lymphozyten, welche bei der Kontrollgruppe nicht zu verzeichnen war.¹¹⁸ Auch bei Hölig et al zeigten sich die Leukozyten und die Neutrophilen bei einer Nachbeobachtung von bis zu 5 Jahren signifikant erniedrigt.¹¹⁹ Die Datenauswertung von de la Rubia et al im Zuge einer 5-Jahres follow-up Studie bei allogenen Stammzell-Spendern konnte in der Kontrolle nach dem ersten Jahr nach erfolgter Mobilisation ebenfalls ein Absinken der Leukozyten verdeutlichen. Die Werte normalisierten sich jedoch im weiteren Beobachtungsverlauf.¹²⁰

Da es zwischen der Anzahl an Leukozyten im peripheren Blut vor Apherese und der Anzahl der Granulozyten im Produkt einen eindeutigen proportionalen Zusammenhang gibt, ist eine adäquate Mobilisation von essenzieller Bedeutung.¹²¹

Ein weiterer wichtiger Faktor, der zu einer deutlichen Steigerung der Sammeleffizienz bei der Granulozyten-Apherese führt, ist die Verwendung eines entsprechenden Sedimentationsbeschleunigers bei der Apherese. Die Ursache hierfür liegt darin, dass sich die Erythrozyten wie Geldrollen aneinander legen, sogenannte Rouleaux-Formationen, und die Sedimentation auf Grund des erhöhten Gewichts im Zentrifugen-Kanal gesteigert wird. Die verbesserte Schicht-Trennung der RBCs und der PMNs führt somit zu einer schnelleren und vereinfachten

¹¹¹ (Jendiroba, Lichtiger, Anaissie et al, 1998)

¹¹² (Dale, Liles, Llewellyn et al, 1998)

¹¹³ (Appelbaum, Bowles, Makuch et al, 1978)

¹¹⁴ (Strauss & Johnson, 2011)

¹¹⁵ (Ghodsí & Strauss, 2001)

¹¹⁶ (McCullough, Clay, Herr et al, 1999)

¹¹⁷ (Bux, Cassens, Dielschneider et al, 2003)

¹¹⁸ (Quillen, Byrne, Yau et al, 2009)

¹¹⁹ (Hölig, Kramer, Kroschinsky et al, 2009)

¹²⁰ (De la Rubia, de Arriba, Arbona et al, 2008)

¹²¹ (Hübel, Dale, Engert et al, 2001)

Schichteneinstellung. Der Verlust an RBCs beim Spender kann einerseits so gering wie möglich gehalten werden, und andererseits der Sammelertrag der Granulozyten gesteigert werden.^{122 123 124 125}

Als Sedimentationsbeschleuniger können verschiedene Stoffe mit unterschiedlicher Effizienz herangezogen werden. Zunächst sind Produkte zu nennen welche auf Hydroxyäthylstärke (HAES) basieren, wie z.B. das hochmolekulare Hetastarch 6% sowie das niedermolekulare Pentastarch 10%.

Die optimale Dosierung beim hochmolekularen HAES liegt bei einem Volumen von 500 ml, welches während der kontinuierlichen Sammlung langsam zugesetzt wird. Eine Steigerung der Dosis ergibt keinen signifikanten Anstieg des Granulozyten-Sammelertrags.¹²⁶ Ca. 50% des zugesetzten HAES werden innerhalb der ersten 24 Stunden nach beendeter Apherese eliminiert. Es können jedoch Spuren des Sedimentationsbeschleunigers noch weit über 3 Monate nach durchgeführter Apherese nachgewiesen werden.¹²⁷ Die unmittelbaren Nebenwirkungen wie Kopfschmerzen und Ödembildung lassen sich auf die kolloidale Eigenschaft des HAES zurückführen. Die langsame Eliminationsrate und die Kumulationsneigung können auch noch Monate nach der Spende zu einem unangenehmen, Therapie-resistenten Pruritus beim Spender führen.¹²⁸ Da das hochmolekulare HAES jedoch stärkere Auswirkungen auf die Hämostase zeigt, und um die oben beschriebenen Nebenwirkungen beim Spender zu umgehen, wurden Untersuchungen mit dem niedermolekularen Pentastarch 10% durchgeführt. Diese zeigten sich jedoch wenig effektiv. Bei einem vergleichbaren Volumen von 500 ml konnten im Schnitt lediglich $1,72 \times 10^{10}$ neutrophile Granulozyten pro Konzentrat angereichert werden.^{129 130} Im Vergleich dazu zeigten sich im Rahmen dieser Arbeit unter Verwendung von Hespan 6%, einem hoch-molekularen HAES, im Durchschnitt am 1. Apherese-Tag 6,65 bzw. am 2. Apherese-Tag $3,68 \times 10^{10}$ neutrophile Granulozyten pro Konzentrat. Lediglich eine einzige Granulozyten-Apherese im Jahre 2011 wurde ohne Zusatz von Hespan 6% durchgeführt. Hierbei zeigte sich bei einer adäquaten Mobilisation mit 45,28 Leukozyten/nl vor Apherese nur $67,48 \times 10^3$ WBCs/ μ l im Produkt. Dies entspricht im Vergleich zu den anderen Apheresaten nur ca. 25%. Proportional dazu war auch die Anzahl der Granulozyten pro Einheit mit $1,26 \times 10^{10}$ entsprechend niedriger als die Produkte welche ebenfalls am 1. Apherese-Tag hergestellt wurden mit Hespan als Sedimentationsbeschleuniger. Der Nutzen und die Effektivität eines Sedimentationsbeschleunigers werden hier sehr deutlich.

Van der Linden et al. berichten in ihrer Arbeit, dass wenn Sicherheits-Konditionen bei der Gabe von Kolloiden eingehalten werden, wie z.B. maximale Dosis bzw. Dauer der Gabe, und keine Erkrankung der Hämostase vorliegt, die Beeinflussung der Hämostase limitiert ist.¹³¹ Weitere Studien hinsichtlich der Verwendung von Stärke-haltigen Produkten im intensivmedizinischen Bereich verdeutlichten einen Zusammenhang zwischen der Gabe an HAES und einem erhöhten Bedarf an einer Nierenersatztherapie.^{132 133}

All diese Studien fanden jedoch im klinischen Umfeld an Patienten statt. Nichts desto trotz muss im Rahmen der Spendersicherheit eine genaue Abklärung erfolgen ob die Granulozyten-Spender durch die Verwendung des hoch-molekularen HAES eine negative Beeinträchtigung erfahren. Hierbei ist einerseits die Hämostase ein Schwerpunkt, einschließlich der Thrombozytenfunktion, und andererseits die Nierenfunktionsparameter sowie die WBCs. Von Bedeutung sind hier vor allem auch Daten aus Langzeitbeobachtungen. Anhand der gewonnen

¹²² (Winters, 2008)

¹²³ (Rock & McCombie, 1985)

¹²⁴ (Bryant, Yau, Byrne et al, 2010)

¹²⁵ (Lee, Leitman & Klein, 1995)

¹²⁶ (Rock & McCombie, 1985)

¹²⁷ (Ring, Sharkoff & Richter, 1980)

¹²⁸ (Forth, Henschler & Rummel, 2001)

¹²⁹ (Strauss, Pennell & Stump, 2002)

¹³⁰ (Strauss, Stansfield, Henriksen et al, 1988)

¹³¹ (Van der Linden & Ickx, 2006)

¹³² (Perner, Haase, Guttormsen et al, 2012)

¹³³ (Myburgh, Finfer, Bellomo et al, 2012)

Ergebnisse sollte eine Nutzen-Risiko-Abwägung erfolgen und eine weitergehende Verwendung kontrovers diskutiert werden.

Eine Möglichkeit Stärke-haltige Produkte zu umgehen, wäre der Einsatz von modifizierten Flüssiggelatine-Präparaten (Modified Fluid Gelatin, MFG). Huestis et al verglich bereits in den 80er Jahren MFG mit HAES, und zeigte, dass in Abhängigkeit welche Apherese-Maschine verwendet wird nahezu eine ähnliche Effizienz unter Verwendung von MFG erreicht wird wie bei HAES.¹³⁴ Rock et al hingegen gibt einen signifikanten Unterschied an, wobei sich unter der Verwendung von MFG eine schlechtere Sammeleffizienz abzeichnet.¹³⁵ Die Daten wurden jedoch einerseits mit einer älteren Generation an Apherese-Maschinen erhoben und andererseits wurde bei der Mobilisation nur Prednisolon eingesetzt. Um eine Aussage über mögliche Vorteile der MFGs treffen zu können, müssen auf Grund der sehr alten Datenlage neue Daten erhoben werden.

Ein weiterer wichtiger Punkt im Rahmen der Herstellung der Granulozyten-Konzentrate spielt auch die Lagerung bis zur Transfusion. Ein Produkt mit einem guten Sammelertrag hat keinen ausreichenden therapeutischen Effekt wenn die neutrophilen Granulozyten durch die Mobilisation mit G-CSF plus Dexamethason bzw. dem Prozess der Apherese mit Zentrifugation oder während der Lagerung eine Einschränkung oder gar Verlust ihrer Funktion erleiden.

Hübel et al führten hier eine Studie durch, wo die hergestellten Granulozyten-Konzentrate geteilt und für 24 bzw. 48 Stunden unter verschiedenen Bedingungen gelagert wurden. Die Funktion der Zellen wurde sowohl bei Raumtemperatur von 22°C, als auch bei 10°C analysiert. Hierbei zeigte sich, dass wenn die Lagerungstemperatur 10°C beträgt sowohl die Expression der Oberflächenantigene CD11b/CD18, CD14, CD16, CD32, und CD64 während der ersten 48 Stunden erhalten bleiben, als auch der respiratorische Burst, die bakterizide und fungizide Aktivität. Die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen jedoch war vermindert. Die Chemotaxis der Zellen hingegen konnte in den ersten 24 Stunden im Normbereich gehalten werden. Auch die Zirkulation und das Migrationsverhalten der Granulozyten in vivo war im Normbereich. Im Vergleich dazu fielen die Ergebnisse bei einer Lagerung von 22°C etwas schlechter aus, wobei es aber zu keiner signifikanten Einschränkung der Funktionsfähigkeit innerhalb der ersten 24 Stunden kam. Die antibakterielle Wirkung zeigte jedoch nach 48 Stunden einen deutlichen Abfall.¹³⁶ In weiteren Studien konnte gezeigt werden, dass bei der Lagerung bei Raumtemperatur die Fähigkeit der Zellen zur Chemotaxis und die Funktion des NADPH-Oxidase Systems innerhalb der ersten 24 Stunden nach Herstellung keine signifikante Minderung zeigen, und die folgende Phagozytose-Fähigkeit der Zellen nicht negativ beeinflusst wird.^{137 138 139 140} Die Lagerung beeinflusst die Freigabe von Botenstoffen nur gering. Hierzu gehört eine leichter, aber signifikanter Anstieg des IL-1 β und IL-8 sowohl nach 24 Stunden als auch nach 48 Stunden Lagerung, wohingegen das IL-6 und TNF unverändert blieb.¹⁴¹

Im Rahmen der Herstellung werden die Granulozyten-Konzentrate am Universitätsklinikum Regensburg für maximal 12 Stunden nach Herstellung bei Raumtemperatur mit 22°C +/- 2°C in Ruhe gelagert. Innerhalb dieses Zeitraums muss die Transfusion gemäß hausinterner Arbeitsanweisung erfolgen. Unter Einbeziehung der oben genannten Studienlage kann somit davon ausgegangen werden, dass die Funktion der gesammelten Granulozyten innerhalb dieses engen Zeitfensters nicht beeinträchtigt war.

¹³⁴ (Huestis, Loftus, Gilcher et al, 1985)

¹³⁵ (Rock, Wise, Kardish et al, 1984)

¹³⁶ (Hübel, Rodger, Gaviria et al, 2005)

¹³⁷ (Leavey, Thurman & Ambruso, 2000)

¹³⁸ (Glasser, Huestis & Jones, 1977)

¹³⁹ (Dale, Liles, Llewellyn et al, 1998)

¹⁴⁰ (Joos, Herzog, Einsele et al, 2002)

¹⁴¹ (Lightfoot, Leitman & Stroncek, 2000)

4.2. Klinische Effektivität der Granulozyten-Konzentrate

Hinsichtlich der Effektivität von Granulozyten-Konzentrat-Transfusion bei neutropenen Patienten gibt es eine Vielzahl an Studien. Hierbei kann einerseits unterschieden werden zwischen einer prophylaktischen Transfusion von Spender-Granulozyten bei anhaltender Neutropenie gepaart mit weiteren, vorliegenden Risikofaktoren für eine schwerwiegenden Infektion, und andererseits eine Transfusion von Granulozyten-Konzentraten zur Behandlung von Therapie-refraktären, lebensbedrohlichen Infektion. Bei der Durchsicht der vorliegenden Arbeiten zeigt sich eine große Anzahl an Fallberichten einzelner Patienten, Beobachtungsstudien und Kohorten-Studien mit geringer Patientenzahl und retrospektiver Auswertung, aber nur eine geringe Anzahl an randomisiert kontrollierten Studien. Diese entsprechen aber in der Durchführung bzw. Design und Protokoll nicht dem aktuell anerkannten Standard.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden 17 Patienten der Klinik für Hämatologie und Onkologie mit insgesamt 99 Granulozyten-Konzentraten versorgt. Die Patienten erhielten zwischen 2 bis 13 Präparate, was im Schnitt einer Anzahl von 6 Präparaten entsprach.

Die Anzahl der Leukozyten in den Produkten betrug am 1. Apherese-Tag im Median $238,1 \times 10^3/\mu\text{l}$ ($67,5 - 412 \times 10^3/\mu\text{l}$) und die Anzahl an neutrophilen Granulozyten $206,4 \times 10^3/\mu\text{l}$ ($35,8 - 381,4 \times 10^3/\mu\text{l}$). Am 2. Apherese-Tag lagen die Werte respektive bei $152 \times 10^3/\mu\text{l}$ ($100,7 - 253,9 \times 10^3/\mu\text{l}$) bzw. $115 \times 10^3/\mu\text{l}$ ($72,2 - 213,2 \times 10^3/\mu\text{l}$). Umgerechnet auf die entsprechenden Volumina der Konzentrate ergab dies an 1.Tag $6,5 \times 10^{10}$ neutrophile Granulozyten pro Einheit ($1,3 - 12,6 \times 10^{10}$ nG/Einheit) und am 2.Tag $3,6 \times 10^{10}$ nG/Einheit ($2,3 - 6,7 \times 10^{10}$ nG/Einheit).

Unter Einbeziehung von Patienteneigenschaften wie Gewicht und Körpergröße bedeutete dies eine Gabe von $8,9 \times 10^8$ neutrophilen Granulozyten pro Kilogramm Körpergewicht im Median ($1,5$ bis $18,4 \times 10^8$ nG/kg KG) an Tag 1 und $5,0 \times 10^8$ neutrophilen Granulozyten pro Kilogramm Körpergewicht ($2,9 - 9,9 \times 10^8$ nG/kg KG) an Tag 2. Auf die berechnete Körperoberfläche der Patienten bezogen betrug dies $3,0 \times 10^{10}$ pro m^2 Körperoberfläche ($0,6 - 6,9 \times 10^{10}/\text{m}^2$ KOF).

Vergleicht man die Werte, so fällt auf dass die Produkte am 1. Tag nahezu doppelt so viele neutrophile Granulozyten enthielten wie die Produkte vom 2. Tag. Dies ist darauf zurückzuführen dass zu Beginn des Spende-Zyklus mehr Leukozyten im peripheren Blut zu verzeichnen waren als am Folgetag. Ein Produkt wurde am 1. Apherese-Tag als Ausnahme ohne HAES als Sedimentationsbeschleuniger hergestellt. Die daraus resultierende, deutlich verminderte Sammeleffizienz schlug sich in den niedrigen Minimalwerten bezogen auf das Produkt nieder. Diese waren im Vergleich zu den Minimalwerten des 2.Tages nur halb so hoch.

Alle transfundierten Produkte enthielte über $1,5 \times 10^8$ Granulozyten/kg KG in Bezug auf das Gewicht des Empfängers und entsprachen somit den Empfehlungen.¹⁴²

Des Weiteren zeigte sich, dass in 98% der Produkte mehr als 2×10^{10} nG/Einheit zu verzeichnen war und in 70,7% sogar mehr als 4×10^{10} nG/Einheit. Hinsichtlich der optimalen therapeutischen Dosis an allogenen Granulozyten gibt es eine Reihe an verschiedenen Studien. Die niedrigste Dosis, welche bei neutropenen Patienten mit Infekt einen Vorteil erbringen kann ist 1×10^{10} Granulozyten pro Einheit.^{143 144 145}

Wiernik et al geben ebenfalls eine klinische Effektivität bei einer Dosis von 1×10^{10} Granulozyten an, allerdings bezogen auf einen Patienten mit einem Körpergewicht von 70 kg. Umgerechnet bedeutet dies, dass eine

¹⁴² (Berger, Engelhardt & Mertelsmann, 2010)

¹⁴³ (Vamvakas & Pineda, 1996)

¹⁴⁴ (Strauss, 1998)

¹⁴⁵ (Massey, Paulus, Doree et al, 2009)

Minstdosis von $1,5 \times 10^8$ Granulozyten/kg KG pro Transfusion nötig ist, damit ein Patient von der Transfusion profitiert.^{146 147 148}

Bereits Untersuchungen an neutropenen Hunden mit Candida-Infektion haben gezeigt, dass es nach der Transfusion von neutrophilen Granulozyten zu einer signifikanten Senkung des Candida-Nachweises im Gewebe kam im Vergleich zu nicht behandelten Hunden.¹⁴⁹ Chow et al haben diese Experimente aufgegriffen und anhand der Ergebnisse festgestellt, dass ca. 50 % des Pilzes bei einem 70 kg schweren Menschen durch die Gabe von zwei Granulozyten-Konzentraten mit der Dosis von $1 - 2 \times 10^{10}$ neutrophilen Granulozyten pro Einheit eliminiert werden kann.¹⁵⁰ Dies entspricht ca. 1/10 der täglichen Neuproduktion bei einem Erwachsenen, welche 10^{11} neutrophilen Granulozyten entspricht.¹⁵¹ Es gibt jedoch auch Studien, welche eine höhere Dosis an neutrophilen Granulozyten als effektive Minstdosis ansetzten. So empfehlen Bensinger et al und Price eine Gabe von $2-4 \times 10^{10}$ neutrophile Granulozyten pro Transfusion.^{152 153}

Vamvakas und Pineda zeigten in ihrer Meta-Analyse, dass ein Zusammenhang zwischen der transfundierten Granulozyten-Dosis, dem Transfusions-Schema und der Leukozyten-Kompatibilität besteht und schließlich auch Auswirkungen auf den Infektverlauf haben. Weiterhin konnte in den Kontrollgruppen, welche keine Granulozyten-Konzentrate erhielten, eine höhere Gesamtmortalität beobachtet werden. Der positive Effekt der Granulozyten-Transfusion ist jedoch an gewisse Voraussetzung geknüpft. Einerseits muss die Infektion bedingt sein durch eine anhaltende absolute Neutropenie definiert durch einen ANC $< 500/\mu\text{l}$ für 10 bis 14 Tagen und kein Ansprechen auf sonstige medikamentöse antimikrobielle Therapie aufweisen.¹⁵⁴ Yenicesu et al untersuchten im Speziellen die GK-Gabe auf Grund einer invasiven Pilzinfektion bei hämato-/onkologischen Patienten, welche eine PBSC-Transplantation dringend benötigten. In solchen Fällen kann die Transfusion von Spender-Granulozyten in Kombination mit einer anti-mykotischen Therapie eine gute Möglichkeit für die Patienten darstellen die klinische Situation soweit zu stabilisieren, dass die Transplantation durchgeführt werden kann.¹⁵⁵ Ofran et al sprechen sich ebenfalls für eine GK-Gabe bei lebensbedrohlichen Infektionen aus. Dies basiert darauf, dass eine Erhöhung der neutrophilen Granulozyten von $>700/\mu\text{l}$ mit einer erniedrigten Mortalität bedingt durch eine Pilzinfektion im Zusammenhang steht.¹⁵⁶

Lee et al untersuchte 25 Patienten mit hämato-onkologischen Erkrankungen und schweren Neutropenie-bedingten Infektionen. Die medikamentöse Therapie alleine erbrachte keine Besserung der Infektsituation. Jedoch durch die Gabe von Granulozyten-Konzentraten konnte bei den Patienten mit Pilzinfektionen ein Ansprechen von 72,7% verzeichnet werden. Bei Patienten mit Infektionen durch Gram-negative bzw. Gram-positive Keime fiel die Ansprech-Rate geringer aus mit 60% bzw. 31,3%. Die transfundierten Produkte wurden durch unterschiedliche Mobilisierungs-Regimen hergestellt. 67% der Spender erhielten nur G-CSF s.c, 9% nur Dexamethason und 24% eine duale Mobilisation (G-CSF + Dexamethason). Bei der Auswertung der gewonnen Daten konnte somit die unterschiedliche Mobilisierung miteinbezogen werden. Obwohl die alleinige Gabe von Dexamethason nicht so effizient war zur Mobilisation im Vergleich zu den beiden anderen Regimen lagen 80%

¹⁴⁶ (Wiernik, Goldman, Dutcher et al, 2013)

¹⁴⁷ (Epstein & Chow, 1981)

¹⁴⁸ (Chow, Sarpel & Epstein, 1982)

¹⁴⁹ (Ruthe, Andersen, Cunningham et al, 1978)

¹⁵⁰ (Chow, Sarpel & Epstein, 1982)

¹⁵¹ (Schrezenmeier, Wiesneth & Reinhardt, 2006)

¹⁵² (Bensinger, Price, Dale et al, 1993)

¹⁵³ (Price, 2007)

¹⁵⁴ (Vamvakas & Pineda, 1997)

¹⁵⁵ (Yenicesu, Sucak, Dilsiz et al, 2011)

¹⁵⁶ (Ofra, Avivi, Oliven et al, 2007)

der Produkte über 2×10^{10} und es konnte kein signifikanter Einfluss der verwendeten Medikation zur Mobilisierung auf das klinische Ansprechen beobachtet werden.¹⁵⁷

Zusätzlich zu der therapeutischen Gabe auf Grund von lebensbedrohlichen Infektionen bei Hochrisiko-Patienten zur kurzzeitige Stabilisierung des Patienten um die zytotoxische Chemotherapie mit anschließender allogener PBSC-Transplantation durchführen zu können, zeigte sich bei Mousset et al auch bei der prophylaktische Gabe von Spender-Granulozyten eine gute klinische Effektivität. Vor allem beim Einsatz der Granulozyten-Konzentrate im Rahmen der sekundären Prophylaxe, konnte kein erneuter Ausbruch bzw. eine Reaktivierung einer vorbekannten Infektion verzeichnet werden. Das Gesamttherapie-Ansprechen bei schwerwiegenden Infektion unter Neutropenie lag bei 82 %, wobei Patienten mit einer Pilzinfektion an Tag 30 nach der ersten GK-Gabe ein schlechteres Outcome zeigten als Patienten mit bakterieller Infektion.¹⁵⁸

Illerhaus et al konnte bei der primär-prophylaktischen Gabe keinen signifikanten Effekt beobachten. Bei den insgesamt 8 Patienten, welche jedoch Granulozyten-Konzentrate transfundiert bekamen auf Grund von schwerwiegenden Infektionen in einer vorheriger Neutropenie und aktuell bestehenden Risikofaktoren, konnte eine Stabilisierung erreicht werden, ohne dass es zum Ausbilden eines Infektes kam bis die neutrophile Regeneration einsetzte. Bei 12 der 18 Patienten (66,7%), welche im Rahmen einer therapeutischen Transfusion Granulozyten erhielten, konnte eine klinische Besserung oder gar eine Beseitigung des Infektes erreicht werden.¹⁵⁹ Price untersuchte insgesamt 19 Patienten. Davon erhielten 3 Patienten Granulozyten-Konzentrate vor PBSC-Transplantation und 16 Patienten nach PBSC-Transplantation auf Grund einer Pilzinfektion bzw. bakteriellen Infektion. Auch hier zeigte sich bei dem Vorliegen einer Infektion bakterieller Genese ein besseres Ergebnis als bei Pilzinfektionen.¹⁶⁰ Safdar et al beobachtete insgesamt 491 Patienten mit maligner Erkrankung und Nachweis einer Candidämie. Nur 29 der 491 Patienten erhielten Granulozyten-Konzentrate. Die Gesamtmortalität in Bezug auf Candidämie lag in der Gruppe mit GK-Gabe bei 48% und in der Kontrollgruppe ohne GK-Gabe bei 45%.¹⁶¹ Hübel et al hingegen untersuchte zwar nur 74 Patienten, welche Spender-Granulozyten erhielten, setzte diesen aber eine gleich starke Kontrollgruppe aus 74 historischen Patienten gegenüber. Zusätzlich wurde bei den Patienten der GK-Gruppe unterschieden ob es sich um Familienspender oder Fremdspender handelte. Zwischen den drei Kohorten zeigte sich kein signifikanter Unterschied. Die Ansprech-Rate auf die Therapie zeigte sich ähnlich, mit ca. 90% bei bakterieller Infektion, ca. 40 % beim Nachweis von Sprosspilzen und nur ca. 30% beim Nachweis von Schimmelpilzen. Auch die Progredienz der Infektion bzw. die Gesamt-Mortalität in Bezug auf die Infektion zeigte keinen signifikanten Unterschied zwischen der GK-Gruppe und der Kontrollgruppe.¹⁶² Zusätzlich konnten Seidel et al bei Patienten nach Granulozyten-Transfusion eine Überlebenswahrscheinlichkeit an Tag 28 mit 84% verzeichnen und bei der Kontrollgruppe, welche keine allogenen Granulozyten bekam, 82%. Auch an Tag 100 bestand kein Unterschied in der Überlebenswahrscheinlichkeit der beiden Gruppen, so dass von keiner Verbesserung des klinischen Outcome auszugehen ist durch die Gabe von Granulozyten. Das Ergebnis war auch davon unabhängig von der Infektgenese, bakteriell oder mykotisch.¹⁶³

Die Ergebnisse sind übereinstimmend mit Stanworth et al , wo im Rahmen der Cochrane Collaboration insgesamt 8 publizierte, randomisiert kontrollierte Studien zusammengetragen und analysiert wurden. Hieraus kann jedoch keine Evidenz-basierte Entscheidung getroffen werden, ob Patienten, welche auf Grund einer myeloablativen

¹⁵⁷ (Lee, Chung, Park et al, 2001)

¹⁵⁸ (Mousset, Hermann, Klein et al, 2005)

¹⁵⁹ (Illerhaus, Wirth, Dwenger et al, 2002)

¹⁶⁰ (Price, Bowden, Boeckh et al, 2000)

¹⁶¹ (Safdar, Hanna, Boktour et al, 2004)

¹⁶² (Hübel, Carter, Liles et al, 2002)

¹⁶³ (Seidel, Peters, Wacker et al, 2008)

Chemotherapie, ggf. mit PBSC-Transplantation, eine Neutropenie entwickeln, von der GK-Gabe profitieren oder nicht.¹⁶⁴

Die aktuellste Studie in Bezug auf die Gabe von allogenen Granulozyten bei Patienten mit malignen hämatologischen Erkrankungen und Pilzinfektion wurde von Raad et al 2013 veröffentlicht. Hierbei wurde der Verlauf und das Outcome von Patienten mit GK-Transfusion verglichen mit einer Patientengruppe ohne Gabe von Spender-Granulozyten. Die Ergebnisse dieser retrospektiven Studie deuten an, dass das Ansprechen auf antimykotische Therapie durch GK-Gabe vermindert wird. Zusätzlich konnte keine signifikante Verbindung aufgezeigt werden zwischen der GK-Gabe und dem Therapieansprechen bzw. konnte gezeigt werden dass die Gabe von GKs keinen signifikanten Effekt auf das Therapieansprechen hat. Die Gesamtmortalität der GK-Gruppe war mit 70 % nicht signifikant erhöht im Vergleich zur non-GK-Gruppe (55%). Jedoch zeigte sich bei den Patienten mit GK-Gabe eine signifikant höhere Mortalitätsrate der IA als bei den Patienten ohne GK-Gabe. Zusätzlich konnte ein Zusammenhang beobachtet werden zwischen der Anzahl an GK-Transfusionen und der Todesfälle, welche auf die IA zurückzuführen waren. Die Rate an pulmonalen Reaktionen betraf 53%, wobei hier Kurzatmigkeit zusätzlich zu Infiltraten innerhalb von 48 h nach Transfusion gezählt wurde. Es zeigte sich also keine Verbesserung der anti-mykotischen Therapie, sondern eher schlechteres Therapieansprechen. Sogar je früher die GK Gabe erfolgt ist, desto größer das Sterberisiko. Die Anzahl der GKs steht in Relation mit der IA-Mortalitätsrate. Ein gewisser Bias lässt sich aber nicht ausschließen. Da mehr Patienten in der GK-Gruppe eine vermehrte iv Antibiose erhielten, besteht die Möglichkeit, dass in dieser Gruppe kränkere Patienten waren.¹⁶⁵

In der hier vorliegenden Arbeit überlebten 10 der 17 analysierten Patienten den Beobachtungszeitraum von 120 Tagen. Von den 7 Patienten, welche verstorben sind, konnte nur in 4 Patienten trotz der Granulozyten-Konzentrat Gabe eine Progredienz der Infektion beobachtet werden. Der Tod trat im Median 7 Tage (5 – 25 Tag) nach der letzten Granulozyten-Konzentrat Gabe ein. 78,8 % der transfundierten Produkte enthielten mehr als 4×10^{10} nG/Einheit, was einer adäquaten Dosis entsprach. Es ist daher davon auszugehen, dass es bereits zu einer fortgeschrittenen Schädigung des Gewebes durch die Infektionen kam, so dass die Granulozyten keine Wirkung erzielten.

Betrachtet man zusätzlich den die Veränderungen des CRP-Wertes nach Beginn der ersten Transfusion der Spender-Granulozyten und setzt diesen in Relation zum Ausgangswert vor der ersten Transfusion, so zeigt sich bei den 4 Patienten mit Progredienz der Pilzinfektion im Trend kein Absenken des CRP-Wertes. Die Werte nach 7 Tagen entsprachen nahezu den Ausgangs-Werten. Demgegenüber konnte bei den übrigen 13 Patienten innerhalb der ersten 7 Tage eine Senkung des CRP-Wertes von über 50% erreicht werden. Der Abfall des CRP-Wertes kann mit der Stabilisierung der Infektsituation korrelieren, was wiederum eine positive Beeinflussung des klinischen Outcome nach sich zieht, basierend darauf, dass die Ausgangslage zur Bekämpfung der Pilzinfektion verbessert wird.

Betrachtet man die Ergebnisse und vergleicht bzw. analysiert diese anhand verschiedener Studien, so lässt sich darauf schließen, dass die Produkte eine ausreichende Anzahl an neutrophilen Granulozyten beinhalten haben um einen therapeutischen Effekt zu erzielen. Des Weiteren deutet die Datenlage darauf hin, dass eine Verringerung der Infekt-assoziierten Mortalität erreicht wurde.

¹⁶⁴ (Stanworth, Massey, Hyde et al, 2010)

¹⁶⁵ (Raad, Chaftari, Al Shuaibi et al, 2013)

Neben dem positiven Effekt der Transfusion von Granulozyten-Konzentrat muss auch der negative Aspekt betrachtet werden. Hierbei sind sowohl Transfusionsreaktionen von Bedeutung sowie die potentiellen Komplikationen einer Allo-Immunisierung durch Bildung von HLA- bzw. HNA-Antikörper gegen die Oberflächenmerkmale der Spenderzellen.

Granulozyten-Konzentrate können wie jedes Blutprodukt zu Komplikationen beim Empfänger führen. Diese können von einfachen allergischen Unverträglichkeiten auf Grund von unspezifischen Spenderproteinen bis hin zu starken pulmonalen Komplikationen auf Grund der Einwanderung von Granulozyten in die Lungenstrombahn reichen. Hierbei spielt die Verwendung unterschiedlicher Medikamente zur Mobilisation der Neutrophilen beim Spender keine wesentliche Rolle.

Price verzeichnete bei ca. 6-13% von GK-Transfusionen das Auftreten von unerwünschten Reaktionen. Am Häufigsten waren Schüttelfrost und Fieber. Bei ca. 7% der Transfusionen zeigte sich Kurzatmigkeit oder eine leichte Hypoxämie, welche sich durch eine Veränderung der Sauerstoffsättigung von weniger als 6% definierte. Eine schwere Hypoxämie hingegen machte einen deutlich geringeren Anteil aus. Es ließ sich nicht zeigen, dass mit einer größeren Anzahl an transfundierten Granulozyten auch die pulmonale Komplikationsrate zunahm.¹⁶⁶ Adkins et al verzeichnete milde bis moderate Nebenwirkungen in 5,7% der Fälle. Schwerwiegende Transfusionsreaktionen konnten nicht beobachtet werden. Ebenso wenig konnte ein eindeutiger Zusammenhang zwischen den Befunden der Leukozyten-Kompatibilität und der Entwicklung einer Transfusionsreaktion ermittelt werden.¹⁶⁷

Im Rahmen einer Phase I/II Studie konnten Price et al keine Bildung bzw. Anstieg bereits vorhandener HNA-Antikörper bei den Patienten verzeichnen, jedoch zeigte sich in 30% der Fälle eine Neu-Bildung von HLA-Antikörpern im Rahmen der GK-Transfusion. Hier war ebenfalls kein Zusammenhang zwischen dem Auftreten einer Transfusionsreaktion und der Allo-Immunisierung zu verzeichnen. Die unerwünschten Nebenwirkungen der Granulozyten-Transfusion wurden als mild bis moderat eingestuft und konnten durch den Einsatz einer adäquaten Prämedikation gesenkt werden. Des Weiteren zeigte sich keine Korrelation zwischen dem Neutrophilen-Inkrement und dem Kompatibilitätsgrad von Spender und Empfänger.¹⁶⁸

Schiffer et al untersuchte in einer Arbeit ob es in Bezug auf die Verträglichkeit und die Immunisierung einen Unterschied gibt zwischen einer Transfusion von Thrombozyten-Konzentraten und Granulozyten-Konzentraten gewonnen von Fremd Spendern. Hierzu wurde einer Patientengruppe mit AML als Grunderkrankung welche Granulozyten-Konzentrate transfundiert bekam eine Kontrollgruppe mit gleicher Grunderkrankung gegenübergestellt, welche lediglich Thrombozyten-Konzentrate erhalten haben. In der Auswertung der Daten zeigt sich in der GK-Gruppe einerseits eine nahezu doppelt so hohe Anzahl an Patienten mit Bildung von Leukozyten-Antikörpern, und andererseits eine signifikant erhöhte Anzahl an Transfusionsreaktionen im Vergleich zur Kontrolle. Des Weiteren deuten die gewonnen Ergebnisse auf einen Zusammenhang zwischen den beobachteten Reaktionen mit einer stattgefundenen Allo-Immunisierung an.¹⁶⁹

Bei Stroncek et al zeigten sogar 78% der Patienten mit einer chronischen Granulomatose Antikörper gegen Leukozyten nach allogener Granulozyten-Konzentrat Gabe. Bei ca. ¾ dieser Patienten konnten Transfusionsreaktionen beobachtet werden, wobei die Hälfte der Ereignisse pulmonale Ursache aufwiesen. Die Daten weisen auf einen deutlichen Zusammenhang zwischen Vorhandensein von HLA- bzw. HNA-Antikörpern und Transfusionsreaktionen hin.¹⁷⁰

¹⁶⁶ (Price, 2002)

¹⁶⁷ (Adkins, Goodnough, Shenoy et al, 2000)

¹⁶⁸ (Price, Bowden, Boeckh et al, 2000)

¹⁶⁹ (Schiffer, Aisner, Daly et al, 1979)

¹⁷⁰ (Stroncek, Leonard, Eiber et al, 1996)

Neben einem potentiellen Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein von HLA- bzw. HNA-Antikörper und Transfusionsreaktionen ist eine mögliche Beeinträchtigung der Wirksamkeit der transfundierten Spender-Granulozyten oder eines zukünftiges Engraftment nach Versorgung mit allogenen PBSCs ein wichtiger Punkt, der in Betracht gezogen werden muss.

Studien deuten darauf hin, dass bei dem Vorhandensein von granulozytären Antikörpern beim Empfänger die inkompatiblen Spender-Granulozyten nicht zu dem Ort der Infektion vorstoßen, sondern vorher abgebaut werden und somit eine reduzierte Halbwertszeit aufweisen. Vorhandene lymphozytotoxische HLA-AK hätten jedoch keinen Einfluss auf die allogenen Granulozyten.¹⁷¹ In einer weiteren Studie zeigte sich beim Vorhandensein von granulozytären AK oder in Kombination mit leukozytären AK zusätzlich zur fehlenden Anreicherung der Granulozyten am Infektionsort eine erniedrigte intravaskulären Erholung und Überleben der inkompatiblen Granulozyten. Der zugrunde liegende Mechanismus ist die Sequestrierung der Granulozyten in der Lunge durch die granulozytären Allo-Antikörper.¹⁷² Heim et al bestätigte in einer neueren Arbeit eine verminderte Überlebensrate der Spender-Granulozyten beim Vorhandensein von HLA-Antikörpern anhand von Ergebnissen der Durchfluss-Zytometrie. Im Rahmen dieser Untersuchungen verdeutlichte sich auch ein Zusammenhang von akuten transfusions-assoziierten Nebenwirkungen und der Allo-Immunisierung.¹⁷³

Des Weiteren zeigen Patienten mit Nachweis einer Allo-Immunisierung in Bezug auf die hämatologische Regeneration der Neutrophilen eine Verzögerung. Zusätzlich haben sie im Durchschnitt eine höhere Anzahl an Tagen mit febrilen Temperatur und benötigen länger eine i.v. Antibiose.¹⁷⁴

Aus den Daten der einzelnen Studien ergibt sich, dass die Transfusion von Spender-Granulozyten mit einer erhöhten Immunisierungs-Rate beim nicht-verwandten Empfänger einhergeht. Die Bildung von HLA- bzw. HNA-Antikörper steht wiederum in Verbindung mit einer verminderter Effizienz der Spender-Granulozyten. Da eine Korrelation mit Transfusionsreaktionen nicht mit absoluter Sicherheit ausgeschlossen werden kann und um den immunologischen Verlauf zu monitoren, sollte im Rahmen der Therapie mit allogenen Granulozyten mindestens zu Beginn und nach Beendigung ein Antikörper Screening erfolgen. Kommt es zu einer schwerwiegenden Transfusionsreaktion, sollten zusätzlich Screening Untersuchungen zeitlich versetzt nach der erfolgten Reaktion erfolgen. Bei auffälligen Ergebnissen sollte unter Einbezug der ursprünglichen Indikation zur GK-Gabe, sowie des klinischen Verlaufs und der aktuellen Symptomatik bzw. Befunde, über die Weiterführung der Transfusions-Therapie entschieden werden. Auch die Ausprägung eventueller Transfusionsreaktionen und die weiterführende Therapie, wie z.B. geplante allogene Stammzell-Tx, müssen bei der Entscheidung mit einbezogen werden. Nur bei einem deutlichen Überwiegen des Nutzens sollten weitere Granulozyten-Konzentrate verabreicht werden. In diesen Fällen sollte die Möglichkeit einer gematchten Versorgung mit Präparaten von HLA bzw. HNA-kompatiblen Spendern in Betracht gezogen werden.

Ein anderer Punkt welcher genauer betrachtet werden muss, ist die Transfusion von Granulozyten-Konzentraten, welche unter Verwendung von hochmolekularen HAES hergestellt wurden. Auf Grund der Datenlage wurde von dem Bundesinstitut für Arzneimittel und Medizinprodukte ein Rote-Hand-Brief veröffentlicht, worin auf Grund der Sicherheitsbedenken von Stärke-haltigen Produkten Empfehlungen zusammengefasst werden. Diese bedeuten eine deutliche Einschränkung in der Verwendung von Hydroxyäthylstärke. So ist die Gabe von HAES eine absolute Kontraindikation bei schwer kranken Patienten in intensivmedizinischer Behandlung, sowie septischen Patienten.¹⁷⁵ Initial wird das HAES zwar als Sedimentationsbeschleuniger dem Spender im Rahmen

¹⁷¹ (McCullough, Weiblen, Clay et al, 1981)

¹⁷² (McCullough, Clay, Hurd et al, 1986)

¹⁷³ (Heim, Fleisher, Stroncek et al, 2011)

¹⁷⁴ (Adkins, Goodnough, Shenoy et al, 2000)

¹⁷⁵ (Rote-Hand-Brief: Anwendungsbeschränkungen für HES, 2013)

der Granulozyten-Apherese infundiert, jedoch befindet sich ein kleiner Bruchteil ebenso in dem hergestellten Produkt. Zum derzeitigen Zeitpunkt existiert jedoch keine Angabe über die schädliche Dosis, welche eine Beeinträchtigung der Hämostase und der Nieren nach sich zieht. Da jedoch die Indikationsstellung zur GK-Gabe meist bei septischen Patienten der Fall ist, so wäre die Gabe der Granulozyten-Konzentrate auf Grund ihres Anteils an HAES kontraindiziert. Aus diesem Grund sollten im Rahmen von weiteren Studien nicht nur die Spendersicherheit untersucht werden, sondern auch eine Nutzen-Risiko Analyse bei den Patienten.

4.3. Abschießende Betrachtung und Ausblick

Die pharmazeutische Industrie hat im Bereich der medikamentösen antimikrobiellen Therapie in den letzten Jahrzehnten für eine Vielzahl von neuen Medikamenten die Zulassung erhalten und somit auf dem Gesundheitsmarkt etablieren können. Hier sind zum Beispiel Breitband-Antibiotika und Anti-Mykotika, wie das liposomale Amphotericin B, Azole und Caspofungin anzuführen.¹⁷⁶ Diese führten zu einer Optimierung der Behandlung bei Patienten mit ausgedehntem Infektionsspektrum. Des Weiteren erbrachte die Einführung von hämatopoetischen Wachstumsfaktoren eine medikamentöse Option die hämatopoetische Regeneration des Patienten zu unterstützen bzw. zu beschleunigen und folglich die Neutropenie-Dauer zu verkürzen. Zusätzlich zu der größeren Auswahl an neuen Medikamenten wurde auch durch die Einführung neuer Therapieregimen, wie z.B. die empirische Therapie oder die konsequente Prophylaxe, der Therapieerfolg bei der Bekämpfung von Infektionen geprägt. Des Weiteren erbrachten der Ausbau der unterstützenden Behandlungsmaßnahmen („supportive care“) und eine Modernisierung der Diagnostik einen Vorteil.

So wie sich jedoch die medikamentöse Therapie in einem stetigen Wandel befindet so kann auch eine Veränderung der Keime bzw. im Keimspektrum verzeichnet werden. So kam es zur Ausbildung vielfacher Resistenzen der Erreger gegenüber bestimmter Medikamente.

Die Therapie von hämatologischen Erkrankungen mit einer Behandlungs-assoziierten Neutropenie und einhergehenden Infektionen stellt jedoch weiterhin nicht nur eine klinische, sondern auch eine enorme gesundheitsökonomische Herausforderung dar. Die vermehrten Ausgaben durch die Maximal-Therapie führen zu einer drastischen Steigerung der Kosten im Gesundheitssystem. Eine Optimierung der Therapie würde also somit einerseits eine Verbesserung der Morbidität bzw. Mortalität erbringen und andererseits die wirtschaftliche Belastung mindern.

Die Ergebnisse, welche im Rahmen dieser Arbeit erhoben wurden deuten darauf hin, dass neutropene Patienten mit medikamentös unbeherrschbaren Pilzinfektionen von der Gabe von Granulozyten-Konzentraten im Rahmen eines multimodalen Therapie-Regimen einen klinischen Vorteil erhalten. Ist die Pilzinfektion jedoch bereits so weit fortgeschritten, dass es durch die Pilzinfektion und die einhergehende Entzündungsreaktion zu einer Schädigung der betroffenen Organe kommt, bringt selbst eine wiederholt hohe Dosis an Spender-Granulozyten keine Besserung der klinischen Situation.

Bei der Betrachtung der existierenden Fallbeobachtungen und Studien, zeigte sich eine große Diversität bzw. Heterogenität einerseits bei der Mobilisierung der Spender und andererseits bei der Granulozyten-Apherese an sich und der folgenden Nachsorge der Spender. Die Etablierung eines gewissen Standards bei der Herstellung von Granulozyten-Konzentraten würde eine bessere Vergleichbarkeit der Produkte erbringen. Dieser Standard sollte zunächst ein konsequentes und einheitliches Mobilisation-Schema der Spender beinhalten. Des Weiteren sollten neben einem einheitlichen Gemisch aus Antikoagulanzen und Sedimentationsbeschleuniger Gerätespezifische Vorgaben hinsichtlich des Trennfaktors, der Antikoagulanzen-Rate und des behandelten Blutvolumens

¹⁷⁶ (Pagano, Caira, Valentini et al, 2010)

festgelegt werden, um eine optimale Sammeleffizienz zu erhalten. Zusätzlich sollte eine adäquate Nachsorge der Spender im Standard verzeichnet werden. Hierbei sollte sowohl auf den zeitliche Aspekt der Nachbeobachtung eingegangen werden - kurzfristig und langfristig -, als auch auf das Ausmaß – laborchemische Parameter und klinische Untersuchung. Diese Daten sind vor allem im Hinblick auf die Spendersicherheit unverzichtbar, da diese zur Auswertung im Rahmen einer follow-up Studie herangezogen werden können. Aktuelle follow-up Studien sind dringend nötig um einen möglichen gesundheitlichen Schaden beim Spender durch den Einsatz von G-CSF zur Mobilisierung oder des verwendeten hochmolekularen, Stärke-haltigen Sedimentationsbeschleunigers zur Granulozyten-Apherese ausschließen zu können.

Neben der Sicherheit der Spender ist die Sicherheit der Patienten ein nächster wichtiger Punkt. Hierbei muss untersucht werden in wie weit die Herstellung der Granulozyten-Konzentrate unter Verwendung von Hydroxyäthylstärke den Patienten beeinflusst. Hierbei sollte der Schwerpunkt vor allem auf der Niere und der Hämostase liegen. Zusätzlich zur Sicherheit spielt die klinische Effektivität der transfundierten Granulozyten-Konzentrate eine essentielle Rolle. Die Klärung hinsichtlich der Effektivität sollte durch prospektive, randomisierte Studien erfolgen, mit einer adäquaten Anzahl an Teilnehmern mit einer vergleichbaren Standard-Therapie. Des Weiteren sollten die Patienten in der Kontrollgruppe sowohl in Bezug auf die Anzahl als auch auf den klinischen Status und Therapie vergleichbar sein.

Da ein Institut bzw. ein Zentrum nur eine eingeschränkte Anzahl an Spendern mobilisiert bzw. Präparate herstellt und auch von Anwenderseite her im klinischen Bereich nur eine geringe Menge an Daten zur Verfügung steht, sollten bei diesen Studien mehrere Zentren bzw. Kliniken miteinbezogen werden. Nur unter Verwendung eines einheitlichen Standards bei der Herstellung, sowie festgelegten Auswahlkriterien (Einschluss- und Ausschlusskriterien) und klinisch relevante Endpunkte ist es möglich aussagekräftige Zahlen hinsichtlich der klinischen Effektivität der GK-Gabe zu erhalten. Hierbei sollte jedoch auf eine Vergleichbarkeit der Daten aus den verschiedenen teilnehmenden Zentren bzw. Kliniken geachtet werden. Im Zusammenhang mit der klinischen Effektivität sollte einerseits die optimale Dosis der Granulozyten-Konzentrate betrachtet werden und andererseits des Zeitschema der Transfusionen. Hier wäre es auch von Vorteil nicht nur die Anzahl der neutrophilen Granulozyten pro Einheit anzugeben, sondern auch in Bezug auf das Körpergewicht des Patienten. Um sowohl das Körpergewicht und die Körpergröße als störende Variable zu neutralisieren wäre sogar die Zellangabe pro m^2 Körperoberfläche am besten. Um die Effektivität messen zu können ist es von großer Bedeutung, dass einerseits das Inkrement nach Transfusion entsprechend bestimmt wird und andererseits klinische Befunde verzeichnet werden. Hierzu zählen Vitalparameter des Patienten (Körpertemperatur, Herzfrequenz, Blutdruck und Sauerstoffsättigung), mikrobiologische bzw. serologische Befunde und bildgebende Befunde (Röntgen, CT und MRT). Weiterhin sollte eine mögliche Beeinflussung der Effektivität der Granulozyten-Konzentrate durch eine potentielle Allo-Immunisierung beim Patienten in Betracht gezogen und untersucht werden. Vor allem bei Patienten mit geplanter oder bereits erfolgter allogener PBSC-Transplantation sollte die Immunisierungs-Rate im Zusammenhang mit dem Zeitpunkt des Engraftments betrachtet werden, um einen möglichen negativen Effekt der GK-Gabe auf das Engraftment und der folgenden hämatopoetischen Regeneration ausschließen zu können. Im gleichen Zuge sollte nochmals der mögliche Zusammenhang zwischen der Allo-Immunisierung und der Rate an schwerwiegenden Transfusionsreaktionen betrachtet werden, sowie eine mögliche Steigerung der Effektivität durch HLA- bzw. HNA-gematchte Granulozyten-Konzentrate. Es sollte geklärt werden ob die klinische Effektivität dadurch signifikant gesteigert werden kann, und ob die Ergebnisse unter Umständen den deutlich gesteigerten logistischen Aufwand bei der Herstellung rechtfertigen. Zusätzlich ist die Einteilung der Patienten anhand ihrer Erkrankung und Therapie von großer Wichtigkeit, um einen Vergleich der Effektivität auch anhand unterschiedlicher Patientengruppen analysieren zu können.

Da viele der oben genannten Punkte bis dato noch nicht zufriedenstellend geklärt werden konnte, sollte dies dringend erfolgen, um eine klare und fundierte Aussage über die Sicherheit und Effizienz der Granulozyten-Konzentrat Gabe treffen zu können.

5. Zusammenfassung

Die vorliegende Arbeit ist eine retrospektive Auswertung von Patientendaten. Hierzu wurden die entsprechenden Patientenakten aus der Klinik für Hämatologie und Onkologie, sowie die Spenderakten aus der Abteilung für Transfusionsmedizin des Instituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin herangezogen. Als Patientenkollektiv dienen hämatologische/onkologische Patienten mit leukämischer Grunderkrankung und geplanter bzw. erfolgter allogener Stammzelltransplantation, welche im Rahmen der Behandlung eine therapierefraktäre Pilzinfektion entwickelten und zusätzlich zur antimikrobiellen, medikamentösen Therapie Transfusionen von Spender-Granulozyten erhalten haben.

Insgesamt konnten in dem Zeitraum vom Januar 2011 bis Dezember 2012 17 Patienten zusammengetragen und im Rahmen der Dissertation ausgewertet werden. Bei der Auswertung wurde sowohl der klinische Verlauf inklusive Bildgebung und Mikrobiologie bzw. Serologie, als auch der laborchemische Verlauf, mit Schwerpunkt auf den Entzündungsparametern wie dem CRP und den Leukozyten, analysiert.

Hierbei konnte gezeigt werden, dass es nur in 4 der 17 Patienten zu einer Progression der Pilzinfektion kam. Des Weiteren deutet die Datenlage daraufhin dass der CRP-Wert ein wichtiger Parameter ist um einschätzen zu können wie erfolgreich die GK-Gabe ist. Dies kann als Entscheidungshilfe dienen, ob die Fortführung der Transfusion von Spender-Granulozyten lohnenswert ist oder nicht.

Zusätzlich zu der Auswertung der Patientendaten, erfolgt eine entsprechende Zusammenfassung und Analyse der insgesamt 99 hergestellten Granulozyten-Konzentraten von 57 männlichen Fremd-Spendern in Bezug auf die vorgeschriebenen Herstellungskriterien.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass das verwendete Regimen der dualen Mobilisation eine effektive Methode darstellt um in Kombination mit der Granulozyten-Apherese allogene Spender-Granulozyten zu gewinnen, und im weiteren durch die Transfusion dieser Präparate das klinische Outcome von neutropenen Patienten mit therapierefraktären Pilzinfektionen zu verbessern.

6. Anhang

6.1. Abkürzungsverzeichnis

Ag	Antigen
a-GvHD	Akute Graft-versus-Host Erkrankung
AK	Antikörper
ALL	Akute lymphatische Leukämie
AML	Akute myeloische Leukämie
ANC	Absolute neutrophil count (Absolute Anzahl an Neutrophilen)
ANV	Akutes Nierenversagen
ATG	Anti-Thymozytenglobulin
BAL	Broncho-alveoläre Lavage
BK	Blutkultur
BM	Bone marrow (Knochenmark)
CBU	Cord blood unit (Nabelschnurblut-Einheit)
CBU-Tx	Cord blood Transplantation (Nabelschnurblut-Transplantation)
CCT	Cranial Computertomographie
c-GvHD	Chronische Graft-versus-Host Erkrankung
CHO	Chinese hamster ovary
CLL	Chronische lymphatische Leukämie
CML	Chronische myeloische Leukämie
CMV	Cytomegalie-Virus
CRP	C-reaktives Protein
CSF	Colony stimulating factor (Wachstumsfaktor)
CT	Computertomographie
EBMT	European Group for Blood and Marrow Transplantation
EBV	Epstein Barr Virus
G-CSF	Granulocyte-colony stimulating factor (Granulozyten-Stimulationsfaktor)
GIT	Gastrointestinal-Trakt
GK	Granulozyten-Konzentrate
GvHD	Graft-versus-Host-Disease (Graft-versus-Host Erkrankung)
Hb	Hämoglobin
HES/HAES	Hydroxyethyl starch (Hydroxyäthylstärke)
HIV	Human immunodeficiency Virus
Hkt	Hämatokrit
HLA	Human leukocyte antigen
HPC	Hämatopoetic progenitor cell
HR-CT	High resolution Computertomography
HSC	Hämatopoetic stem cell
HSV	Herpes-Simplex Virus
HTLV	Humanes T-Lymphotropes Virus
IA	Invasive Aspergillose
ICB	Intrakranielle Blutung
IFI	Invasive fungal infection (invasive Pilzinfektion)
IL	Interleukin
IPA	Invasive pulmonale Aspergillose
KG	Körpergewicht
/kg KG	pro Kilogramm Körpergewicht
KM-CT	Kontrastmittel-Computertomographie
KMP	Knochenmarkspunktion
KOF	Körperoberfläche
MDS	Myelodysplastische Syndrom
MNC	Mononuclear cell (Mononukleäre Zelle)
MRD	Matched related donor

MUD	Matched unrelated donor
nG	Neutrophile Granulozyten
PBSC	Peripheral blood stem cell (Blutstammzelle)
PMN	Polymorphonuclear cell (Granulozyt)
SZ	Stammzelle
SZ-Tx	Stammzell-Transplantation
Ta-GvHD	Transfusion-associated Graft-versus-Host-Disease
TBI	Total body irradiation (Ganzkörperbestrahlung)
TNF	Tumornekrose Faktor
Tx	Transplantation
UCB	Umbilical Cord Blood (Nabelschnurblut)
VRE	Vancomycin-resistenter Enterococcus
VZV	Varizella-Zoster Virus
WBC	White blood cell (Leukozyt)

6.2. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Zusammenfassung über Grunderkrankung, Therapie und Diagnostik.....	33
Tabelle 2: Zusammenfassung über Transplantat	34
Tabelle 3: Zusammenfassung über leukozytären und thrombozytären Take	35
Tabelle 4: Spender-spezifische Parameter	38
Tabelle 5: Hämoglobin- und Leukozyten-Werte vor Apherese	39
Tabelle 6: Spezifische Parameter der Granulozyten-Konzentrate	40
Tabelle 7: Übersicht über Komplikationen bei verstorbenen Patienten	77
Tabelle 8: Zusammenfassung der CRP und Leukozyten-Werte im Verlauf	78
Tabelle 9: CRP-Veränderung im Verlauf in Bezug auf CRP-Wert vor erster GK-Gabe bei verstorbenen Patienten.....	79
Tabelle 10: CRP-Veränderung im Verlauf in Bezug auf CRP-Wert vor erster GK-Gabe bei überlebenden Patienten.....	79
Tabelle 11: GK-Gabe im Rahmen der Vorbereitung zu einer allogenen SZ-Tx	81
Tabelle 12: GK-Gabe unmittelbar vor allogenen SZ-Tx.....	81
Tabelle 13: GK-Gabe nach erfolgter allogenen SZ-Tx	81
Tabelle 14: Kalkulation für die Kaplan-Meier Schätzung.....	82
Tabelle 15: Legende für die Kalkulation	83

6.3. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Schematische Darstellung der Hämatopoese	16
Abbildung 2: Leukopoese	17
Abbildung 3: Phagozytose durch neutrophilen Granulozyt.....	18
Abbildung 4: Spezifisches Gewicht der Blutbestandteile	36
Abbildung 5: Blutkomponenten	37
Abbildung 6: Überwachung der Schnittstelle mittels Colorgram	37
Abbildung 7: Boxplot Diagramm der Hämoglobin-Werte vor Apherese	39
Abbildung 8: Boxplot Diagramm der Leukozyten-Werte vor Apherese	39
Abbildung 9: Boxplot Diagramm der WBCs in den Granulozyten-Konzentraten.....	41
Abbildung 10: Boxplot Diagramm der nG in den Granulozyten-Konzentraten	41
Abbildung 11: Boxplot Diagramm der Granulozyten pro Einheit	42
Abbildung 12: Boxplot Diagramm der Volumina der Granulozyten-Konzentrate	42
Abbildung 13: Boxplot Diagramm Parameter der Granulozyten-Konzentrate.....	43
Abbildung 14: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 1	43
Abbildung 15: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 1.....	44
Abbildung 16: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 1.....	44
Abbildung 17: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 2	45
Abbildung 18: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 2.....	45
Abbildung 19: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 2.....	46
Abbildung 20: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 3	47
Abbildung 21: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 3.....	47
	98

Abbildung 22: Linien-Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 3	48
Abbildung 23: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 4	49
Abbildung 24: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 4.....	49
Abbildung 25: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 4.....	50
Abbildung 26: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 5	51
Abbildung 27: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 5.....	51
Abbildung 28: Linien-Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 5	52
Abbildung 29: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 6	53
Abbildung 30: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 6.....	53
Abbildung 31: Linien-Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 6	54
Abbildung 32: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 7	55
Abbildung 33: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 7.....	55
Abbildung 34: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 7.....	56
Abbildung 35: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 8	57
Abbildung 36: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 8.....	57
Abbildung 37: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 8.....	58
Abbildung 38: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 9	59
Abbildung 39: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 9.....	59
Abbildung 40: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 9.....	60
Abbildung 41: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 10	61
Abbildung 42: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 10.....	61
Abbildung 43: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 10.....	62
Abbildung 44: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 11	63
Abbildung 45: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 11.....	63
Abbildung 46: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 11.....	64
Abbildung 47: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 12	65
Abbildung 48: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 12.....	65
Abbildung 49: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 12.....	66
Abbildung 50: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 13	67
Abbildung 51: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 13.....	67
Abbildung 52: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 13.....	68
Abbildung 53: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 14	69
Abbildung 54: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 14.....	69
Abbildung 55: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 14.....	70
Abbildung 56: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 15	71
Abbildung 57: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 15.....	71
Abbildung 58: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 15.....	72
Abbildung 59: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 16	73
Abbildung 60: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 16.....	73
Abbildung 61: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 16.....	74
Abbildung 62: Säulen Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 17	75
Abbildung 63: Boxplot Diagramm - Parameter Granulozyten-Konzentrat Patient 17.....	75
Abbildung 64: Linien Diagramm – Veränderung der Entzündungsparameter und Leukozyten-Werte Patient 17.....	76
Abbildung 65: Boxplot Diagramm - CRP-Veränderung im Verlauf bei den verstorbenen Patienten.....	80
Abbildung 66: Boxplot Diagramm - CRP-Veränderung im Verlauf bei den überlebenden Patienten.....	80
Abbildung 67: Kaplan-Meier Kurve	83

6.4. Lebenslauf

6.5. Ehrenwörtliche Erklärung

Ich, Katharina Dullinger, erkläre hiermit,

dass ich die vorliegende Arbeit ohne unzulässige Hilfe Dritter und ohne Benutzung anderer als der angegebenen Hilfsmittel angefertigt habe.

Die aus anderen Quellen direkt oder indirekt übernommenen Daten und Konzepte sind unter Angabe der Quelle gekennzeichnet.

Insbesondere habe ich nicht die entgeltliche Hilfe von Vermittlungs- bzw. Beratungsdiensten (Promotionsberater oder andere Personen) in Anspruch genommen.

Niemand hat von mir unmittelbar oder mittelbar geldwerte Leistungen für Arbeit erhalten, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen.

Die Arbeit wurde bisher weder im In- noch im Ausland in gleicher oder ähnlicher Form einer anderen Prüfungsbehörde vorgelegt.

6.6. Danksagung

Ich möchte mich an dieser Stelle zunächst bei Prof. Dr. E. Holler bedanken für sein Engagement und seine Unterstützung auf dem Weg zur finalen Fassung. Ohne seine Leitung wäre es nicht zu dieser Promotion gekommen.

Des Weiteren bedanke ich mich bei PD Dr. N. Ahrens für die Überlassung des Themas, der Zurverfügungstellung der transfusionsmedizinischen Daten, sowie der Beratung in Bezug auf transfusionsmedizinisch relevante Gesichtspunkte.

Ein weiterer Dank geht an Frau Huttner, Sekretärin der KMT-Ambulanz für die freundliche Hilfe bei der Beschaffung der entsprechenden Krankenakten.

Den Spendern der transfusionsmedizinischen Abteilung am Universitätsklinikum Regensburg gilt ein besonderer Dank. Sie haben nicht nur ihre Granulozyten für die Patienten gespendet, sondern auch ihre Freizeit. Einige unter Ihnen haben auch persönliche Verpflichtungen hinten angestellt, wenn es darum ging an speziellen Tagen wie Weihnachten oder Ostern zu spenden.

In diesem Zusammenhang möchte ich mich auch ganz besonders beim Pflegepersonal der Abteilung für Transfusionsmedizin bedanken für ihren unermüdlichen und tatkräftigen Einsatz bei der Betreuung der Spender und der Herstellung der Granulozyten-Konzentrate.

Ganz großer Dank geht an meine Eltern. Ohne ihre Unterstützung und Geduld wäre die Arbeit nicht zustande gekommen. Ihr Vertrauen in mich hat mir die Kraft und Ausdauer gegeben trotz aller Widrigkeiten die Arbeit zu vervollständigen und zum Ende zu führen.

Zuletzt bedanke ich mich bei der Firma Terumo BCT für die Zurverfügungstellung des Bildmaterials aus ihrem Schulungsarbeitsbuch „COBE Spectra Apheresesystem“.

7. Literaturverzeichnis

- Adkins, D., Goodnough, L., Shenoy, S., et al (2000). Effect of leukocyte compatibility on neutrophil increment after transfusion of granulocyte colony-stimulating factor–mobilized prophylactic granulocyte transfusions and on clinical outcomes after stem cell transplantation. *Blood*, 95(11), 3605–3612.
- Anasetti, C., Logan, B. R., Lee, S. J., et al (2012). Peripheral-Blood Stem Cells versus Bone Marrow from Unrelated Donors. *New England Journal of Medicine*, 367(16), 1487–1496.
- Appelbaum, F. R., Bowles, C. A., Makuch, R. W., et al (1978). Granulocyte transfusion therapy of experimental *Pseudomonas* septicemia: Study of cell dose and collection technique. *Blood*, 52(2), 323–331.
- Azoulay, É. (2011). *Pulmonary Involvement in Patients with Hematological Malignancies* (p. 827). Berlin, Heidelberg: Springer Verlag.
- Bensinger, W. I., Price, T. H., Dale, D. C., et al (1993). The effects of daily recombinant human granulocyte colony-stimulating factor administration on normal granulocyte donors undergoing leukapheresis. *Blood*, 81, 1883–1888.
- Berger, D. P., Engelhardt, R., & Mertelsmann, R. (2010). *Das Rote Buch: Hämatologie und Internistische Onkologie* (4. überarbeitete Auflage). ecomed Medizin, Verlagsgruppe Hüthig Jehle Rehm.
- Bewick, V., Cheek, L., & Ball, J., (2004). Statistics review 12 : Survival analysis. *Critical Care*, 8(5), 389–394.
- Bishop, M. R. (2009). *Hematopoietic Stem Cell Transplantation* (p. 592). NewYork: Springer Science+Business Media, LLC.
- Bodey, G. P., Buckley, M., Sathe, Y. S., et al (1966). Quantitative Relationships Between Circulating Leukocytes and Infection in Patients with Acute Leukemia. *Ann Intern Med.*, 64(2), 328–340.
- Bryant, B. J., Yau, Y. Y., Byrne, P. J., et al (2010). Gravity sedimentation of granulocytopheresis concentrates with hydroxyethyl starch efficiently removes red blood cells and retains neutrophils. *Transfusion*, 50(6), 1203–1209.
- Bundesärztekammer (2009). *Querschnitts-Leitlinien zur Therapie mit Blutkomponenten und Plasmaderivaten* (4.überarbeitete Auflage, p. 272). Deutscher Ärzte-Verlag Köln.
- Bundesärztekammer (2010). *Richtlinien zur Gewinnung von Blut und Blutbestandteilen und zur Anwendung von Blutprodukten (Hämotherapie)* (p. 117). Deutscher Ärzte-Verlag Köln.
- Bux, J., Cassens, U., Dielschneider, T., et al (2003). Tolerance of granulocyte donors towards granulocyte colony-stimulating factor stimulation and of patients towards granulocyte transfusions: Result of a multicentre study. *Vox Sanguinis*, 85, 322–325.
- Chow, H. S., Sarpel, S. C., & Epstein, R. B. (1982). Experimental candidiasis in neutropenic dogs: Tissue burden of infection and granulocyte transfusion effects. *Blood*, 59, 328–333.
- Classen, M., Diehl, V., & Kochsiek, K. (1998). *Innere Medizin* (4. neu bearbeitete Auflage, p. 1684). Urban & Schwarzenberg.
- COBE Spectra Apheresesystem - Schulungsarbeitsbuch MNZ Programm (2004).
- Dale, D. C., Liles, W. C., Llewellyn, C., et al (1998). Neutrophil transfusions: Kinetics and functions of neutrophils mobilized with granulocyte-colony-stimulating factor and dexamethasone. *Transfusion*, 38(8), 713–721.

- Dale, D. C., Liles, W. C., & Price, T. H. (1997). Renewed interest in granulocyte transfusion therapy. *British Journal of Haematology*, 98(3), 497–501.
- De la Rubia, J., de Arriba, F., Arbona, C., et al (2008). Follow-up of healthy donors receiving granulocyte colony-stimulating factor for peripheral blood progenitor cell mobilization and collection. Results of the Spanish Donor Registry. *Haematologica*, 93(5), 735–740.
- Epstein, R. B., & Chow, H. S. (1981). An Analysis of Quantitative Relationships of Granulocyte Transfusion Therapy in Canines. *Transfusion*, 21(3), 360–362.
- Fauci, A. S., Braunwald, E., Kasper, D. L., et al (2008). *Harrisosn's Principles of Internal Medicine, Volume I* (17th Edition, p. 1364). Mc Graw Hill Medical.
- Ford, J. M., Cullen, M. H., Lucey, J. J., et al (1976). Fatal graft-versus-host disease following transfusion of granulocytes from normal donors. *The Lancet*, 308, 1167–1169.
- Forth, W., Henschler, D., & Rummel, W. (2001). *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie* (8.Auflage, p. 1258). Urban & Fischer.
- Frölich, J. C., & Kirch, W. (2006). *Praktische Arzneitherapie* (4. aktualisierte Auflage, p. 1280). Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Ghodsi, Z., & Strauss, R. G. (2001). Cataracts in neutrophil donors stimulated with adrenal corticosteroids. *Transfusion*, 41(12), 1464–1468.
- Glasser, L., Huestis, D. W., & Jones, J. F. (1977). Functional Capabilities of Steroid-Recruited Neutrophils Harvested for Clinical Transfusion. *New England Journal of Medicine*, 297(19), 1033–1036.
- Heim, K. F., Fleisher, T. A., Stroncek, D. F., et al (2011). The relationship between alloimmunization and posttransfusion granulocyte survival: Experience in a chronic granulomatous disease cohort. *Transfusion*, 51(6), 1154–1162.
- Held, U. (2010). Grafische Darstellung und Vergleich von Überlebenszeitverläufen. *Schweiz Med Forum*, 10(33), 548–550.
- Hiddemann, W., & Bartram, C. R. (2010). *Die Onkologie* (2. aktualisierte Auflage, p. 1854). Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Hölig, K., Kramer, M., Kroschinsky, F., et al (2009). Safety and efficacy of hematopoietic stem cell collection from mobilized peripheral blood in unrelated volunteers: 12 years of single-center experience in 3928 donors. *Blood*, 114(18), 3757–3763.
- Hübel, K., Carter, R. A., Liles, W. C., et al (2002). Granulocyte transfusion therapy for infections in candidates and recipients of HPC transplantation: A comparative analysis of feasibility and outcome for community donors versus related donors. *Transfusion*, 42(11), 1414–1421.
- Hübel, K., Dale, D. C., Engert, A, et al (2001). Current status of granulocyte (neutrophil) transfusion therapy for infectious diseases. *The Journal of Infectious Diseases*, 183(2), 321–328.
- Hübel, K., Rodger, E., Gaviria, J. M., et al (2005). Effective storage of granulocytes collected by centrifugation leukapheresis from donors stimulated with granulocyte-colony-stimulating factor. *Transfusion*, 45(12), 1876–1889.
- Huestis, D. W., Loftus, T. J., Gilcher, R., et al (1985). Modified fluid gelatin - An alternative macromolecular agent for centrifugal leukapheresis. *Transfusion*, 25(4), 343–348.

- Illerhaus, G., Wirth, K., Dwenger, A., et al (2002). Treatment and prophylaxis of severe infections in neutropenic patients by granulocyte transfusions. *Annals of Hematology*, 81(5), 273–281.
- Jendiroba, D. B., Lichtiger, B., Anaissie, E., et al (1998). Evaluation and comparison of three mobilization methods for the collection of granulocytes. *Transfusion*, 38(8), 722–728.
- Joos, K., Herzog, R., Einsele, H., et al (2002). Characterization and functional analysis of granulocyte concentrates collected from donors after repeated G-CSF stimulation. *Transfusion*, 42, 603–611.
- Kessler, K., Goudeva, L., & Heuft, H. (2011). Lenograstim With or Without Dexamethasone for Neutrophil Mobilization in Healthy Donors : Short-Term Kinetics of White Blood Cells and Effects of Granulocyte Apheresis. *Journal of Clinical Apheresis*, 26, 338–346.
- Kikuta, A., Ohto, H., Nemoto, K., et al (2006). Therapeutic transfusions of granulocytes collected by simple bag method for children with cancer and neutropenic infections: Results of a single-centre pilot study. *Vox sanguinis*, 91(1), 70–76.
- Klinke, R., Silbernagl, S., & Bauer, C. (2003). *Lehrbuch der Physiologie* (4th Edition, p. 842). Stuttgart: Thieme Verlag.
- Kurosawa, M., Yonezumi, M., Hashino, S., et al (2012). Epidemiology and treatment outcome of invasive fungal infections in patients with hematological malignancies. *International Journal of Hematology*, 96(6), 748–57.
- Labor Limbach, *Berechnung Körperoberfläche*, URL http://www.labor-Limbach.de/Berechnung_Koerperob.127.0.html, Stand: 26.05.2013
- Leavey, P. J., Thurman, G., & Ambruso, D. R. (2000). Functional characteristics of neutrophils collected and stored after administration of G-CSF. *Transfusion*, 40, 414–419.
- Lee, J. H., Leitman, S. F., & Klein, H. G. (1995). A controlled comparison of the efficacy of hetastarch and pentastarch in granulocyte collections by centrifugal leukapheresis. *Blood*, 86(12), 4662–4666.
- Lee, J. J., Chung, I. J., Park, M. R., et al (2001). Clinical efficacy of granulocyte transfusion therapy in patients with neutropenia-related infections. *Leukemia*, 15(2), 203–207.
- Lemmer, B., & Brune, K. (2006). *Pharmakotherapie* (13. überarbeitete Auflage, p. 563). Heidelberg: Springer Medizin Verlag.
- Lightfoot, T., Leitman, S. F., & Stroncek, D. F. (2000). Storage of G-CSF-mobilized granulocyte concentrates. *Transfusion*, 40(9), 1104–1110.
- Liles, W. C., Huang, J. E., Llewellyn, C., et al (1997). A comparative trial of granulocyte-colony-stimulating factor and dexamethasone, separately and in combination, for the mobilization of neutrophils in the peripheral blood of normal volunteers. *Transfusion*, 37(2), 182–187.
- Liles, W. C., Rodger, E., & Dale, D. C. (2000). Combined administration of G-CSF and dexamethasone for the mobilization of granulocytes in normal donors: Optimization of dosing. *Transfusion*, 40, 642–644.

- Löffler, G., & Petrides, P. E. (1998). *Biochemie und Pathobiochemie* (6. korrigierte Auflage, p. 1155). Springer Verlag.
- Maschmeyer, G., & Braveny, I. (2000). Review of the incidence and prognosis of *Pseudomonas aeruginosa* infections in cancer patients in the 1990s. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*, 19(12), 915–925.
- Massey, E., Paulus, U., Doree, C., et al (2009). Granulocyte transfusions for preventing infections in patients with neutropenia or neutrophil dysfunction. *The Cochrane Collaboration*, 1, 1-22.
- Maziarz, R. T., & Slater, S. (2011). *Blood and Marrow Transplant Handbook* (p. 324). New York: Springer Science+Business Media, LLC.
- McCullough, J., Clay, M., Herr, G., et al (1999). Effects of granulocyte-colony-stimulating factor on potential normal granulocyte donors. *Transfusion*, 39(10), 1136–1140.
- McCullough, J., Clay, M., Hurd, D., et al (1986). Effect of leukocyte antibodies and HLA matching on the intravascular recovery, survival, and tissue localization of 111-indium granulocytes. *Blood*, 67(2), 522–528.
- McCullough, J., Weiblen, B., Clay, M., et al (1981). Effect of leukocyte antibodies on the fate in vivo of indium-111- labeled granulocytes. *Blood*, 58, 164–170.
- Michl, M. (2005). *Basics Hämatologie* (1st Edition, p. 165). München: Elsevier, Urban & Fischer.
- Mosteller, R. D. (1987). Simplified calculation of body-surface area. *New England Journal of Medicine*, 317, 1098–1099.
- Mousset, S., Hermann, S., Klein, S. A., et al (2005). Prophylactic and interventional granulocyte transfusions in patients with haematological malignancies and life-threatening infections during neutropenia. *Annals of Hematology*, 84(11), 734–741.
- Müller-Esterl, W. (2011). *Biochemie: Eine Einführung für Mediziner und Naturwissenschaftler* (2. Auflage, p.790). Spektrum Akademischer Verlag.
- Myburgh, J. A., Finfer, S., Bellomo, R., et al (2012). Hydroxyethyl starch or saline for fluid resuscitation in intensive care. *The New England Journal of Medicine*, 367(20), 1901–1911.
- Offner, F., Cordonnier, C., Ljungman, P., et al (1998). Impact of Previous Aspergillosis on the Outcome of Bone Marrow Transplantation. *Clinical Infectious Diseases*, 26, 1098–1103.
- Ofran, Y., Avivi, I., Oliven, A., et al (2007). Granulocyte transfusions for neutropenic patients with life-threatening infections: A single centre experience in 47 patients, who received 348 granulocyte transfusions. *Vox sanguinis*, 93(4), 363–369.
- Pagano, L., Caira, M., Nosari, A., et al (2007). Fungal Infections in Recipients of Hematopoietic Stem Cell Transplants: Results of the SEIFEM B-2004 Study. *Clinical Infectious Diseases*, 45(9), 1161–1170.
- Pagano, L., Caira, M., Valentini, C. G., et al (2010). Current therapeutic approaches to fungal infections in immunocompromised hematological patients. *Blood reviews*, 24(2), 51–61.
- Perner, A., Haase, N., Guttormsen, A. B., et al (2012). Hydroxyethyl starch 130/0.42 versus Ringer's acetate in severe sepsis. *The New England journal of medicine*, 367(2), 124–134.
- Price, T. H. (2002). Granulocyte transfusion in the G-CSF era. *International Journal of Hematology*, 76, 77–80.

- Price, T. H. (2007). Granulocyte transfusion: current status. *Seminars in Hematology*, 44(1), 15–23.
- Price, T. H., Bowden, R. A., Boeckh, M., et al (2000). Phase I/II trial of neutrophil transfusions from donors stimulated with G-CSF and dexamethasone for treatment of patients with infections in hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 95(11), 3302–3309.
- Price, T. H., & Dale, D. C. (1979). Blood kinetics and in vivo chemotaxis of transfused neutrophils: Effects of collection method, donor corticosteroid treatment, and short-term storage, 54, 977–986.
- Price, T. H., Benjamin, R. J., Distler, P., et al (2008). *Standards for Blood Banks and Transfusion Services* (25th Edition, p. 133). American Association of Blood Banks (AABB).
- Pschyrembel, Klinisches Wörterbuch*. (2002) (259. neu bearbeitete Auflage, p. 1842). Berlin: Walter de Gruyter GmbH & Co. KG.
- Pui, C.-H., & Evans, W. (2006). Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 354(2), 166–178.
- Pui, C.-H., Relling, M. V., & Downing, J. R. (2004). Mechanisms of disease - Acute Lymphoblastic Leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 350(15), 1535–1548.
- Quillen, K., Byrne, P., Yau, Y. Y., et al (2009). Ten-year follow-up of unrelated volunteer granulocyte donors who have received multiple cycles of granulocyte-colony-stimulating factor and dexamethasone. *Transfusion*, 49(3), 513–518.
- Raad, I. I., Chaftari, A. M., Al Shuaibi, M. M., et al (2013). Granulocyte transfusions in hematologic malignancy patients with invasive pulmonary aspergillosis: Outcomes and complications. *Annals of Oncology*, 24(7), 1873–1879.
- Ring, J., Sharkoff, D., & Richter, W. (1980). Intravascular Persistence of Hydroxyethyl Starch (HES) after Serial Granulocyte Collections Using HES in Man. *Vox sanguinis*, 39(4), 181–185.
- Rock, G., & McCombie, N. (1985). Alternate dosage regimens for high-molecular-weight hydroxyethyl starch. *Transfusion*, 25(5), 417–419.
- Rock, G., Wise, P., Kardish, R., et al (1984). Modified fluid gelatin in leukapheresis accumulation and persistence in the body. *Transfusion*, 24(1), 68–73.
- Roilides, E., Walsh, T. J., Pizzo, P. A., et al (1991). Granulocyte Colony-Stimulating Factor Enhances the Phagocytic and Bactericidal Activity of Normal and Defective Human Neutrophils. *J Infect Dis.*, 163(3), 579–583.
- Rolston, K. V. I., & Tarrand, J. J. (1999). *Pseudomonas aeruginosa*—Still a Frequent Pathogen in Patients with Cancer: 11-Year Experience at a Comprehensive Cancer Center. *Clin Infect Dis.*, 29(2), 463–464.
- Rote-Hand-Brief: Anwendungsbeschränkungen für HES*. (2013) (p. 5).
- Russell, J. A., & Powles, R. L. (1976). A practical guide to granulocyte transfusion therapy. *J. clin. Path.*, 29, 369–379.
- Ruthe, R. C., Andersen, B. R., Cunningham, B., et al (1978). Efficacy of granulocyte transfusions in the control of systemic candidiasis in the leukopenic host. *Blood*, 52, 493–498.

- Safdar, A., Hanna, H. A., Boktour, M., et al (2004). Impact of high-dose granulocyte transfusions in patients with cancer with candidemia: Retrospective case-control analysis of 491 episodes of *Candida* species bloodstream infections. *Cancer*, 101(12), 2859–2865.
- Schiffer, C. A., Aisner, J., Daly, P. A., et al (1979). Alloimmunization following prophylactic granulocyte transfusion. *Blood*, 54(4), 766–774.
- Schmitt, A., Reinhardt, P., Schmitt, M., et al (2002). Functional State of Steroid- versus G-CSF-Mobilized Granulocytes: Considerations about the Storage of Granulocyte Concentrates for Neutropenic Patients. *Infusion Therapy Transfusion Medicine*, 29(2), 57–64.
- Schrezenmeier, H., Wiesneth, M., & Reinhardt, P. (2006). Zelltherapie mit Granulozyten , Lymphozyten und Natürlichen Killerzellen. *Hämotherapie*, 6, 1-8.
- Segal, B. H. (2009). Aspergillosis. *The New England Journal of Medicine*, 360(18), 1870–1884.
- Seidel, M. G., Peters, C., Wacker, A., et al (2008). Randomized phase III study of granulocyte transfusions in neutropenic patients. *Bone Marrow Transplantation*, 42(10), 679–684.
- Smith, T. J., Khatcheressian, J., Lyman, G. H., et al (2006). 2006 Update of Recommendations for the Use of White Blood Cell Growth Factors: an Evidence-Based Clinical Practice Guideline. *Journal of Clinical Oncology*, 24(19), 3187–3205.
- Soiffer, R. J. (2008). *Hematopoietic Stem Cell Transplantation*. (2nd Edition, p. 753). Humana Press.
- Stanworth, S., Massey, E., Hyde, C., et al (2010). Granulocyte transfusions for treating infections in patients with neutropenia or neutrophil dysfunction. *The Cochrane Collaboration*, 8, 1-27.
- Strauss, R. G. (1998). Neutrophil (granulocyte) transfusions in the new millennium. *Transfusion*, 38(8), 710–712.
- Strauss, R. G., & Johnson, A. T. (2011). Cataracts and corticosteroids in granulocyte donors. *Transfusion*, 51(5), 904–907.
- Strauss, R. G., Pennell, B. J., & Stump, D. C. (2002). A randomized, blinded trial comparing the hemostatic effects of pentastarch versus hetastarch. *Transfusion*, 42(1), 27–36.
- Strauss, R. G., Stansfield, C., Henriksen, R. A., et al (1988). Pentastarch may cause fewer effects on coagulation than hetastarch. *Transfusion*, 28(3), 257–260.
- Stroncek, D. F., Leonard, K., Eiber, G., et al (1996). Alloimmunization after granulocyte transfusions. *Transfusion*, 36(11-12), 1009–1015.
- Vamvakas, E. C., & Pineda, A. A. (1997). Determinants of the efficacy of prophylactic granulocyte transfusions: A meta-analysis. *Journal of Clinical Apheresis*, 12(2), 74–81.
- Vamvakas, E. C., & Pineda, A. A. (1996). Meta-analysis of clinical studies of the efficacy of granulocyte transfusions in the treatment of bacterial sepsis. *Journal of Clinical Apheresis*, 11(1), 1–9.
- Van der Linden, P., & Ickx, B. E. (2006). The effects of colloid solutions on hemostasis. *Canadian Journal of Anesthesia*, 53, 30–39.
- Wiernik, P. H., Goldman, J. M., Dutcher, J. P., et al (2013). *Neoplastic Diseases of the Blood* (5th Edition, p. 1431). New York: Springer Science+Business Media.

- Winters, J. L. (2008). *Therapeutic Apheresis: A Physician's Handbook* (2nd Edition, p. 245). American Association of Blood Banks (AABB).
- Yenicesu, I., Sucak, G., Dilsiz, G., et al (2011). Hematopoietic stem cell transplantation in a very high risk group of patients with the support of granulocyte transfusion. *Indian Journal of Hematology & Blood Transfusion*, 27(3), 146–151.
- Ziegler, A., Lange, S., & Bender, R. (2007). Überlebenszeitanalyse : Eigenschaften und Kaplan-Meier Methode. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 132(15), 36–38.
- Zsebo, K. M., Cohen, A. M., Murdock, D. C., et al (1986). Recombinant Human Granulocyte Colony Stimulating Factor: Molecular and Biological Characterization. *Immunobiology*, 172, 175–184.
- Zwiener, I., Blettner, M., & Hommel, G. (2011). Überlebenszeitanalyse. *Deutsche Ärzteblatt*, 108(10), 163–169.